

**MULTIPLIKASI TUNAS *PROTOCORM LIKE BODY* (PLB) ANGGREK
Dendrobium stratiotes (Rchb.f) MENGGUNAKAN THIDIAZURON (TDZ) DAN
ASAM AMINO GLUTAMIN SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh:

IFTITA NUR AINI HARMITA

NIM: 17620041



PROGRAM STUDI BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

2022

**MULTIPLIKASI TUNAS *PROTOCORM LIKE BODY (PLB)* ANGGREK
Dendrobium stratiotes (Rchb.f) MENGGUNAKAN THIDIAZURON (TDZ) DAN
ASAM AMINO GLUTAMIN SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh:

IFTITA NUR AINI HARMITA

NIM: 17620041

Diajukan Kepada:

Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam

Memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si)

PROGRAM STUDI BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2022

**MULTIPLIKASI TUNAS *PROTOCORM LIKE BODY* (PLB) ANGGREK
(*Dendrobium stratiotes* Rchb.f) MENGGUNAKAN THIDIAZURON (TDZ)
DAN ASAM AMINO GLUTAMIN SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh:

IFTITA NUR AINI HARMITA

NIM.17620041

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji:

Tanggal: 30 Mei 2022

Pembimbing I



Kholifah Holil, M. Si
NIP. 197511062009122002

Pembimbing II



Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I
NIPT. 201402011409

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi



Dr. Erika Sandi Savitri, M. P
NIP. 19741018 200312 2 002

MULTIPLIKASI TUNAS *PROTOCORM LIKE BODY* (PLB) ANGGREK *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) MENGGUNAKAN THIDIAZURON DAN ASAM AMINO GLUTAMIN SECARA *IN VITRO*

SKRIPSI

Oleh :

Iftita Nur Aini Harmita

NIM. 17620041

Telah dipertahankan

di depan Dewan Penguji Skripsi dan Dinyatakan Diterima Sebagai
Salah Satu Persyaratan untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal : 13 Juni 2022

Ketua Penguji : Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.

NIP. 19741018200312 2 002

(.....)

Anggota Penguji 1 : Ruri Siti Resmisari, M.Si.

NIP. 1979012320160801 2 063

(.....)

Anggota Penguji 2 : Kholifah Holil, M.Si.

NIP. 19751106 200912 2 002

(.....)

Anggota Penguji 3 : Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I.

NIPT. 20142011409

(.....)

Mengesahkan,

Ketua Program Studi Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P

NIP. 19741018 200312 2 002

HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini penulis persembahkan untuk semua orang yang telah mendukung dan membantu penulis dalam penyusunan skripsi ini, khususnya:

1. Ibu tercinta Hj. Nurul Hidayati, ayah tercinta yang telah merawat, mendidik dan mendoakan serta mendukung kami untuk mewujudkan cita-cita penulis, sehingga bisa menyelesaikan skripsi dengan baik.
2. Kakak tersayang Emilda Nancy Harmita S.H., Abdul Majid S.E dan keponakan tersayang Alya Aghnia Bilqis Mahira yang senantiasa memberikan semangat dan mendoakan penulis agar selalu diberikan kelancaran sehingga dapat menyelesaikan skripsi.
3. Ibu Kholifah Holil M.Si, selaku dosen pembimbing skripsi utama dan Bapak Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I., selaku dosen pembimbing agama yang senantiasa membimbing penulis dengan penuh kesabaran.
4. Ibu Dr. Evika Sandi Savitri, M.P selaku penguji utama dan Ibu Ruri Siti Resmisari M.Si selaku anggota penguji pada sidang skripsi yang mana telah memberikan kritik dan saran sehingga skripsi ini menjadi lebih baik.
5. Ibu Ruri Siti Resmisari, M.Si selaku dosen wali yang senantiasa membimbing dan memberikan arahan kepada penulis selama menjadi mahasiswa.
6. Mbak Lil selaku Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan yang selalu mengarahkan dan membantu penulis untuk menyelesaikan skripsi.
7. Teman-teman satu angkatan Wolves dan Squirrel squad khususnya tim riset anggrek Rani, Serlina, Imey yang saling membantu selama menjalani penelitian

sampai akhir.

8. Teman-teman dan sahabat seperjuangan Khoirul Zakiyah dan Elok Maulidia, Anah Ariskah dan Ni'matul Maghfiroh.
9. Serta seluruh pihak yang telah memberikan dukungan dan doanya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik yang tidak dapat diucapkan satu-persatu.

Malang, 21 Juni 2022

MOTTO

**“Jadilah baik, tetapi jangan sibukkan
waktumu untuk membuktikan pada
siapapun”**

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Ifिता Nur Aini Harmita
NIM : 17620041
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Multiplikasi Tunas *Protocorm Like Body* (PLB) Anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) Menggunakan Thidiazuron (TDZ) dan Asam Amino Glutamin Secara *In Vitro*

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi akademik maupun hukum atas perbuatan tersebut.

Malang, 30 Mei 2022

Yang membuat pernyataan,



Ifिता Nur Aini Harmita

NIM. 17620041

Pedoman penggunaan skripsi

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizing penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkan

Multiplikasi Tunas *Protocorm Like Body* Anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) Menggunakan Thidiazuron (TDZ) dan Asam Amino Glutamin Secara *In Vitro*

Iftita Nur Aini H, Kholifah Holil, M. Mukhlis Fahrudin

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri
Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRAK

Anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) merupakan anggrek endemik Maluku yang populer diperdagangkan karena keindahan warna dan bentuk bunganya. Selain itu bunga anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) merupakan anggrek spesies yang dijadikan induk dalam persilangan sehingga perlu dilakukan konservasi untuk mempertahankan plasma nutfahnya. Kultur *in vitro* dapat menjadi solusi untuk alternatif dalam perbanyak bit anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) untuk memenuhi bibit yang banyak dalam waktu yang relatif singkat. Pemberian Zat Pengatur tumbuh (ZPT) dan asam amino dalam media dapat mempengaruhi multiplikasi tunas anggrek. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ZPT thidiazuron (TDZ) dan asam amino glutamin serta kombinasi keduanya terhadap multiplikasi tunas *Protocorm Like Body* (PLB) anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f). Penelitian ini bersifat eksperimental, menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 36 perlakuan 4 kali ulangan. Faktor perlakuan yang digunakan pada penelitian ini terdapat 2 macam yaitu konsentrasi TDZ 0 mg/l, 0,25 mg/l, 0,5 mg/l, 0,75 mg/l, 1 mg/l dan 1,25 mg/l dan asam amino glutamin 0 mg/l, 50 mg/l, 100 mg/l, 150 mg/l, 200 mg/l, dan 250 mg/l. Analisis hasil pengamatan menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA), kemudian dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan taraf signifikan 5% apabila terdapat pengaruh yang nyata terhadap variabel pengamatan. Berdasarkan hasil pengamatan didapatkan konsentrasi terbaik dari kombinasi keduanya yaitu TDZ 0,25 mg/l dan 150 mg/l asam amino glutamin yang memunculkan tunas pada hari ke-8 setelah tanam dengan rata-rata 16,75 tunas dan rata-rata tinggi tunas 0,65 cm.

Kata kunci: *glutamin, thidiazuron, multiplikasi tunas*

Multiplication of Orchid *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) *Protocorm Like Body* (PLB) Shoot Using Thidiazuron (TDZ) and Amino Glutamine Acid *In Vitro*

Iftita Nur Aini H, Kholifah Holil, M. Mukhlis Fahrudin

Biology Study Program, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik Ibrahim
Islamic State University Malang

ABSTRACT

Orchid *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) is an endemic Maluku orchid that is famous through traded due to the beautiful colour and the shape of the flower. Moreover, orchid *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) is a species that is used as the parent in the cross so that it is necessary to do conservation to maintain the germplasm. The in vitro culture can be the solution for alternative in multiplication of orchid seeds *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) in order to fulfil the seeds in enormous way in short period. Furthermore, the orchid is given growth regulator and amino acid in the media so that it will influence the multiplication shoots of orchid. The purpose of this research is to determine the influence of thidiazuron growth regulator and glutamin amino acid and the combination of both against the multiplication shoots *Protocorm Like Body* of orchid *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f). The character of this research is experimental, using the complete random design with 36 behaviour of 4 times repeat. The behaviour factor used in this research is divided into two, they are TDZ concentrate 0 mg/l, 0.25 mg/l, 0.5 mg/l, 0.75 mg/l, 1 mg/l and 1.25 mg/l, and glutamin amino acid 0 mg/l, 50 mg/l, 100 mg/l, 150 mg/l, 200 mg/l, and 250 mg/l. The result analysis of the research is using *Analysis of Variety* (ANAVA), then it is continued on *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) with significant rate of 5%. If there is a real influence against the observed variable. Based on observations, the best concentration of the combination of the two was TDZ 0.25 mg/l and 150 mg/l amino acid glutamine which gave rise to shoots on the 8th day after planting with an average of 16.75 shoots and an average shoot height of 0,65 cm.

Keywords: *glutamin, thidiazuron, shoots multiplication*

تكاثر الثقافة الفرعية لنبته *PROTOCOLORM LIKE BODY* (PLB) الأوركيد باستخدام
THIDIAZURON (TDZ) وحمض الأميني الجلوتامين الأميني بشكل الزراعة داخل المختبر
IN VITRO

افتتاح نور عيني ه ، خليفة خليل ، محمد مخلص فخر الدين

قسم دراسة الأحياء ، كلية العلوم والتكنولوجيا ، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية
مالانج

مستخلص البحث

الأوركيد (*Dendrobium stratiotes* Rchb.f) هو الأوركيد المتوطن في مالوكو والذي يتم تداوله شعبياً بسبب جمال لون الزهور وشكلها. بالإضافة إلى ذلك ، فإن زهرة الأوركيد (*Dendrobium stratiotes* Rchb.f) هي نوع الأوركيد الذي يستخدم كآباء في التجهين بحيث يجب القيام بالمحافظة لحفاظ الأصول الوراثية الخاصة بها. تمكن أن تكون الزراعة داخل المختبر حلاً بديلاً لإكثار بذور الأوركيد (*Dendrobium stratiotes* Rchb.f) لتلبية عدد كبير من البذور في وقت قصير نسبياً. يمكن أن يؤثر توفير منظم النمو (*ZPT*) والحمض الأميني في الوسائل على تكاثر نبتة الأوركيد. يهدف هذا البحث إلى وصف تأثير *ZPT thidiazuron* (TDZ) والحمض الأميني الجلوتامين ومزيجهما على تكاثر نبتة الأوركيد ضد تكاثر نبتة *Protocorm Like Body* (PLB) الأوركيد (*Dendrobium stratiotes* Rchb.f). هذا البحث تجريبي باستخدام التصميم العشوائي الكامل مع 36 معاملة بأربع مكررات. كانت عوامل العلاج المستخدمة في هذا البحث نوعين ، وهما تركيز *TDZ* 0 مليغرام / لتر ، و 0.25 مليغرام / لتر ، و 0.5 مليغرام / لتر ، و 0.75 مليغرام / لتر ، و 1 مليغرام / لتر ، و 1.25 مليغرام / لتر ، والأحماض الأمينية الجلوتامين 0 مليغرام / لتر ، و 50 مليغرام / لتر ، و 100 مليغرام / لتر ، و 150 مليغرام / لتر ، و 200 مليغرام / لتر ، و 250 مليغرام / لتر. استخدم تحليل الملاحظة تحليل التباين الأحادي (*ANAVA*) ، ثم يستمر باختبار متعدد المدى دونكان (*DMRT*) بمستوى هام قدره 5٪ إذا كان هناك تأثير كبير على متغير الملاحظة. بناءً على نتائج الملاحظة ، كان أفضل التركيز للمزيج هو *TDZ* 0 مليغرام / لتر و 150 مليغرام / لتر من الأحماض الأمينية الجلوتامين لمعاملات يوم ظهور النبتة بمتوسط النمو في اليوم الثامن بعد الزراعة. وأما أفضل التركيبة لعدد النبتة وارتفاع النبتة هي *TDZ* 0.25 مليغرام / لتر والأحماض الأمينية الجلوتامين 150 مليغرام / لتر بمتوسط 16.75 نبتة وارتفاع النبتة 0.65 سنتيمتر.

الكلمات الرئيسية: الجلوتامين ، *thidiazuron* ، تكاثر النبتة

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Bismillahirrahmanirrahim, segala puji dan syukur kepada Allah SWT. yang telah memberikan rahmat, nikmat dan hidayah- Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Multiplikasi tunas *Protocorm Like Body* (PLB) anggrek (*Dendrobium stratiotes* Rchb.f) menggunakan thidiazuron (TDZ) dan asam amino glutamin secara *in vitro*”. Skripsi ini disusun sebagai syarat dalam mencapai gelar sarjana Biologi (S1) di Fakultas Sains dan Tektonoli Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada seluruh pihak yang membantu, mengarahkan, membimbing dan mendukung dalam proses penelitian dan penyusunan skripsi sehingga dapat menjadi suatu karya yang baik. Oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. M. Zainuddin, MA, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
2. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains & Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.Si selaku Ketua Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
4. Kholifah Holil, M.Si dan Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I selaku pembimbing I dan II, yang telah membimbing penulis dalam menyelesaikan naskah skripsi ini dengan penuh kesabaran dan keikhlasan.
5. Ruri Siti Resmasari, M.Si selaku Dosen wali yang telah membimbing dan memberikan dorongan motivasi kepada penulis hingga dapat menyelesaikan studi.

6. Segenap dosen, laboran dan staff administrasi di Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan bimbingan dan ilmu selama studi.
7. Kedua orangtua tersayang dan keluarga penulis, yang selalu memberikan doa, nasihat dan semangat dalam menyelesaikan studi.
8. Sahabat-sahabat seperjuangan di Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang selalu mensupport moral, nasihat, dan menjadi bagian dari perjalanan selama studi di Malang.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih banyak kekurangan dan penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis khususnya, pembaca pada umumnya serta menambah khasanah ilmu pengetahuan. Aamiin.

Wassalamualaikum Wr.Wb.

Malang, 07 Juni 2022

Iftita Nur Aini Harmita

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	1
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
مستخلص البحث.....	xi
KATA PENGANTAR	xii
DAFTAR ISI.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	9
1.3 Tujuan.....	10
1.4 Hipotesis.....	10
1.5 Manfaat.....	11
1.6 Batasan Masalah.....	11
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	13
2.1. Tinjauan Umum Anggrek.....	13
2.2 Deskripsi Anggrek (<i>Dendrobium stratiotes</i> Rchb.f)	15
2.2.1 Morfologi Anggrek <i>Dendrobium stratiotes</i> Rchb.f.....	18
2.3 Kultur <i>In Vitro</i>	25
2.4 Faktor-Faktor yang mempengaruhi Kultur <i>In Vitro</i>	27
2.4.1 Eksplan.....	27
2.4.2 Sterilisasi.....	28
2.4.3 Media kultur.....	28
2.4.4 Suhu dan Lingkungan	31

2.5 Zat pengatur tumbuh.....	32
2.6 Thidiazuron.....	34
2.7 Multiplikasi Tunas.....	36
2.8 Protocorm Like Bodies (PLB).....	38
2.9 Asam Amino.....	40
2.10 Penggunaan Glutamin pada Kultur In Vitro.....	42
BAB III METODE PENELITIAN.....	48
3.1 Rancangan Penelitian.....	48
3.2 Variabel Penelitian.....	48
3.3 Waktu dan Tempat.....	49
3.4 Populasi dan Sampel Penelitian.....	49
3.5 Alat dan Bahan.....	49
3.5.1 Alat.....	49
3.5.2 Bahan.....	50
3.6 Prosedur Kerja.....	50
3.6.1 Sterilisasi Alat.....	50
3.6.2 Sterilisasi Ruangan.....	51
3.6.3 Pembuatan Larutan Stok.....	51
3.6.4 Pembuatan Media VW0.....	52
3.6.5 Pembuatan Media VW + TDZ + Asam amino Glutamin.....	53
3.6.6 Multiplikasi Tunas Anggrek (<i>Dendrobium stratiotes</i>).....	54
3.6.7 Tahap Pengamatan.....	55
3.7 Analisis Data.....	56
3.8 Alur Penelitian.....	57
BAB IV.....	58
4.1 Pengaruh Penambahan Thidiazuron Terhadap Multiplikasi Tunas <i>Protocorm Like Body</i> (PLB) Anggrek (<i>Dendrobium Stratiotes</i> Rchb.f).....	58
4.2 Pengaruh Penambahan Asam Amino Glutamin Terhadap Multiplikasi Tunas <i>Protocorm Like Body</i> (PLB) Anggrek (<i>Dendrobium Stratiotes</i> Rchb.f).....	65

4.3 Pengaruh Pemberian Kombinasi TDZ dan Asam Amino Glutamin Terhadap Multiplikasi Tunas <i>Protocorm Like Bodies</i> (PLB) Anggrek (<i>Dendrobium stratiotes</i> Rchbf.).....	73
4.4 Pengaruh Perlakuan Kombinasi TDZ dan Asam Amino Glutamin terhadap Warna Tunas <i>Protocorm Like Body</i> (PLB) Anggrek (<i>Dendrobium stratiotes</i> Rchb.f).....	79
4.5 Pembahasan Hasil Penelitian dalam Integrasi Sains dan Islam.....	85
BAB V KESIMPULAN	93
5.1. Kesimpulan.....	93
5.2. Saran	94
DAFTAR PUSTAKA	96
LAMPIRAN.....	111

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1. Komposisi Media VW.....	29
3.1. Kombinasi Perlakuan TDZ dan Glutamin.....	48
4.1. Hasil ANAVA Pengaruh Penambahan TDZ terhadap Multiplikasi Tunas <i>Protocorm Like Body</i> (PLB) Anggrek (<i>Dendrobium stratiotes</i> Rhcbf.).....	59
4.2. Hasil Uji DMRT Pengaruh Penambahan TDZ terhadap Multiplikasi Tunas <i>Protocorm Like Body</i> (PLB) Anggrek (<i>Dendrobium stratiotes</i> Rhcbf.).....	60
4.3. Hasil ANAVA Pengaruh Penambahan glutamin terhadap Multiplikasi Tunas <i>Protocorm Like Body</i> (PLB) Anggrek (<i>Dendrobium stratiotes</i> Rhcbf.).....	67
4.4. Hasil Uji DMRT Pengaruh Penambahan glutamin terhadap Multiplikasi Tunas <i>Protocorm Like Body</i> (PLB) Anggrek (<i>Dendrobium stratiotes</i> Rhcbf.).....	68
4.5. Hasil ANAVA Pengaruh Kombinasi TDZ dan glutamin terhadap Multiplikasi Tunas <i>Protocorm Like Body</i> (PLB) Anggrek (<i>Dendrobium stratiotes</i> Rhcbf.)...74	
4.6. Hasil Uji DMRT Pengaruh Kombinasi TDZ dan glutamin terhadap Multiplikasi Tunas <i>Protocorm Like Body</i> (PLB) Anggrek (<i>Dendrobium stratiotes</i> Rhcbf.)...75	
4.7. Hasil Pengamatan Morfologi Warna Tunas.....	80

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Morfologi Tanaman Anggrek (<i>Dendrobium stratiotes</i> Rchb.f).....	19
2.2. Struktur Kimia TDZ.....	36
2.3. <i>Protocorm Like Body</i>	39
2.4. Struktur Kimia Asam Amino Glutamin.....	45
3.1. Eksplan Tunas PLB Anggrek (<i>Dendrobium stratiotes</i> Rchb.f).....	45
3.2. Alur Penelitian.....	55
4.1. Hasil Multiplikasi Tunas PLB dengan Penambahan TDZ.....	65
4.2. Hasil Multiplikasi Tunas PLB dengan Penambahan Glutamin.....	76
4.2. Morfologi Warna Tunas.....	84

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia dikenal sebagai negara dengan kekayaan akan jenis flora dan faunanya salah satunya adalah anggrek. Anggrek merupakan tanaman hias berbunga yang termasuk ke dalam famili Orchidaceae yang memiliki kurang lebih 20.000 – 35.000 jenis di dunia dan lebih dari 5000 spesies ditemukan di Indonesia (Karyanti, 2017). Dari 5000 jenis diantaranya berada di Pulau Sumatra 1.118 jenis, Pulau Kalimantan 2.500 jenis, Pulau Sulawesi dan Maluku 817 jenis, Pulau Papua 3000 jenis, dan Pulau Jawa lebih dari 731 jenis (Purwanto, 2016).

Tanaman anggrek menjadi tanaman industri bernilai tinggi di beberapa negara seperti Thailand, Singapura, Australia, Malaysia, dan Indonesia. Anggrek Genus *Dendrobium*, *Cymbidium*, *Oncidium* dan *Phalaenopsis* merupakan anggrek yang banyak diminati oleh pasar global. Anggrek memiliki nilai ekonomis lebih tinggi jika dibandingkan dengan tanaman hias yang lain. Keindahan dan kecantikan bunga anggrek membuat tanaman anggrek disebut “*Queen of Flower*” (Paletri *et al*, 2019).

Salah satu jenis anggrek yang menempati posisi teratas dalam urutan trend pasar anggrek adalah anggrek *Dendrobium* karena memiliki beberapa keistimewaan diantaranya adalah bentuk bunga yang sempurna dengan berbagai variasi warna, mahkota bunga tidak mudah rontok, dan kesegaran bunga yang

tahan lama (Setiawati *et al*, 2016). Beberapa spesies *Dendrobium* yang banyak dikenal antara lain *Den. sutiknoi*, *Den. dlasianthera*, *Den. leporium*, *Den. liniale*, *Den. bicaudatum*, *Den. antennatum* dan *Den. stratiotes* (Assagaf, 2012).

Anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) merupakan anggrek endemik Maluku (Halmahera dan Morotai) yang memiliki bunga unik dengan ciri-ciri bunga petal berbentuk spiral dengan keindahan warna dan bentuk bunganya membuat orang tertarik untuk memperdagangkannya. Menurut Rachmawati *et al*, 2016), bunga dari anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rhcb.f) mengeluarkan aroma yang harum. Anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) juga dijadikan sebagai salah satu induk dalam persilangan. Beberapa keunggulan dari Anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) menjadikan tanaman tersebut berpotensi mengalami kepunahan. Menurut CITES (2021), Anggrek *Dendrobium stratiotes* masuk dalam daftar CITES (*Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora*) appendix II yang artinya hanya boleh diperdagangkan apabila berasal dari hasil perbanyakan dan pengambilan langsung dari alam untuk perdagangan tidak diperbolehkan untuk mencegah kepunahan. Berdasarkan permasalahan tersebut perlu dilakukan konservasi untuk mempertahankan plasma nutfahnya.

Perbanyakan tanaman anggrek secara konvensional khususnya anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rhcb.f) dapat dilakukan dengan dua cara yaitu generatif dan vegetatif. Perbanyakan secara generatif menggunakan biji dianggap kurang

efisien karena perkecambahan biji anggrek secara alami tidak mudah karena ukuran biji yang sangat kecil dan tidak memiliki endosperm (cadangan makanan) sehingga proses perkecambahan memerlukan nutrisi dari luar atau lingkungan sekitarnya (Ningsih dan Febrianti, 2014). Sedangkan perbanyakkan secara vegetatif melalui pembelahan rumpun, penggunaan pseudobulb atau pemisahan anakan membutuhkan waktu yang lama dan menghasilkan jumlah anakan yang sedikit serta sulit dilakukan karena keterbatasan tanaman induk di alam (Kartiman, 2018). Perbanyakkan konvensional yang sulit dilakukan ini dapat diatasi dengan teknik kultur jaringan (*in vitro*) sebagai salah satu usaha konservasi mencegah kepunahan anggrek *D. stratiotes* (Rchb.f). Menurut Hapsani (2016), manfaat kultur *in vitro* adalah untuk menghasilkan bibit dalam jumlah yang banyak tanpa memerlukan induk yang banyak dalam waktu yang relatif singkat. Selain itu juga memiliki fungsi eliminasi suatu penyakit atau produksi bibit bebas penyakit, kelestarian plasma nutfah, dan memperoleh varietas unggul.

Perbanyakkan tumbuhan secara umum telah diterangkan Allah *Subhanahu*

Wa Ta'ala dalam Al Qur'an Surat Al-Waqiah ayat 62-64:

وَلَقَدْ عَلِمْتُمُ النَّشْأَةَ الْأُولَىٰ فَلَوْلَا تَذَكَّرُونَ ۚ ۞ ۚ ۞
 أَفَرَأَيْتُمْ مَا تَحْرُثُونَ ۞ ۚ ۞
 ءَأَنْتُمْ تَرْزُقُونَهُ ۖ أَمْ نَحْنُ الَّذِينَ نَرْزُقُوهٖ ۚ ۞ ۚ ۞

Artinya: “Dan sungguh, kamu telah tahu penciptaan yang pertama, mengapa kamu tidak mengambil pelajaran (untuk penciptaan yang kedua)?”

Pernahkah kamu perhatikan benih yang kamu tanam? Kamukah yang menumbuhkannya atau Kami yang menumbuhkan?”

Ayat tersebut menggunakan kata **النَّشْأَةَ** bukan kata **خَلَقَ** yang keduanya memiliki arti “*penciptaan*”. Menurut (Manzhur, 1999), kata **النَّشْأَةَ** berasal dari *fiil* (kata kerja) **أَنْشَأَ يَنْشِئُ** - yang bermakna menciptakan. Penciptaan yang dimaksud adalah proses yang memiliki sesuatu yang awal, untuk kemudian berakhir pada titik lainnya. Kata **النَّشْأَةَ** memiliki maksud “*menciptakan sesuatu dari yang ada ke sesuatu yang baru kemudian mengembangkannya*”, sedangkan kata **خَلَقَ** berarti “*menciptakan sesuatu tanpa asal atau menciptakan sesuatu dari sesuatu*”. Menurut Ibnu Katsir ayat tersebut menerangkan bahwa Allah SWT telah menciptakan makhluk yang sebelumnya sama sekali tidak pernah ada dan tidak pernah disebut (Katsir, 1988). Dzat yang telah menciptakan pertama kali pasti berkuasa pula menciptakan yang kedua kalinya. Proses mengembalikan seperti semula tidak sesulit ketika menciptakannya pertama kali, dari tidak ada menjadi ada (al-Jazairi, 2009).

Mengacu pada ayat-ayat di atas, maka konsep dasar perbanyakan secara *in vitro* dapat dikatakan merupakan hasil dari usaha manusia untuk mengambil pelajaran dari penciptaan pertama kali. Pada dasarnya perbanyakan tumbuhan secara kultur jaringan (*in vitro*) bukan merupakan menciptakan sesuatu dari yang tidak ada, melainkan hanyalah melakukan perbanyakan dari induknya.

Kultur jaringan pada anggrek ada beberapa tahapan yang dilalui yaitu sterilisasi bahan tanam, pengecambahan benih dalam media hingga membentuk PLB (*Protocorm Like Body*), multiplikasi dan regenerasi planlet, pengakaran dan aklimatisasi. Multiplikasi tunas merupakan tahapan yang sangat penting dalam perbanyakan anggrek secara kultur jaringan (Kartiman, 2018). Multiplikasi tunas merupakan proses dari organogenesis langsung dengan tujuan untuk memperbanyak eksplan yang berasal dari inisiasi tunas kemudian dapat tumbuh menjadi tunas adventif atau tunas aksilar (Armini *et al*, 1992). Media tumbuh multiplikasi tunas anggrek pada kultur *in vitro* sangat besar pengaruhnya terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan serta bibit yang dihasilkannya (Nika *et al*, 2018). Menurut Astri (2014), media VW (*Vacin Went*) digunakan sebagai media pertumbuhan tanaman anggrek dan memberikan pengaruh yang baik dalam multiplikasi tunas anggrek *Dendrobium sp.*

Kesesuaian komposisi media tumbuh sangat mempengaruhi pertumbuhan eksplan pada kultur jaringan. Untuk memenuhi kebutuhan pertumbuhan anggrek, membutuhkan penambahan komponen zat pengatur tumbuh (ZPT) atau asam amino. Zat Pengatur Tumbuh yang sering digunakan dalam multiplikasi tunas adalah sitokinin, yang berperan untuk menginisiasi pertumbuhan tunas (Zulkarnain, 2009). Thidiazuron merupakan senyawa yang dapat menginduksi perbanyakan tunas yang lebih cepat dibandingkan dengan sitokinin jenis lain (Karyanti, 2017). Hal ini dikarenakan thidiazuron mampu mendorong terjadinya perubahan sitokinin ribonukleotida menjadi lebih aktif (Sari *et al*, 2015). Thidiazuron merupakan ZPT yang dapat berperan menjadi inhibitor sitokinin oksidase yaitu suatu enzim yang dapat menghilangkan

keaktifan pada sitokinin tipe adenin bebas. Sehingga Thidiazuron dapat meningkatkan kinerja sitokinin yang lain, baik sitokinin endogen maupun sitokinin eksogen (Guo *et al.*, 2011).

Penambahan TDZ pada media kultur telah terbukti berpengaruh terhadap multiplikasi tunas. Sebagaimana penelitian yang dilakukan Swandra dan Netty (2012), pemberian konsentrasi 0,25 TDZ mg/l pada media multiplikasi Tunas Andalas (*Morus macroura* Miq. var. *macroura*) memberikan hasil jumlah tunas tertinggi dengan rata-rata 12,67. Selanjutnya, penelitian Karyanti (2017) pada anggrek *Vanda douglas*, menyatakan bahwa pertambahan tunas terbaik dengan rata-rata jumlah tunas 8.00 diperoleh pada perlakuan konsentrasi TDZ 0,5 mg/l. Penelitian sejenis telah dilakukan oleh Restanto *et al.*, (2018), dengan penambahan TDZ 1 ppm terbukti meningkatkan parameter jumlah PLB Anggrek *Phalaenopsis* sp. Selain zat pengatur tumbuh, asam amino juga sering ditambahkan pada beberapa penelitian kultur *in vitro*.

Penambahan komponen pemicu pertumbuhan pada media tumbuh seperti asam amino telah menunjukkan pengaruh yang signifikan untuk pertumbuhan dan perkembangan pada kultur jaringan (Asharo *et al.*, 2013). Beberapa jenis asam amino seperti glisin, glutamin, dan asparagin biasa ditambahkan dalam media kultur sebagai sumber nitrogen organik (Ibrahim, 2015). Hal ini dikarenakan tanaman yang ditumbuhkan secara *in vitro* akan bersifat heterotrof, sehingga penambahan asam amino pada media akan dimanfaatkan secara langsung oleh tanaman (Sitorus *et al.*, 2011). Asam amino memiliki fungsi sebagai sumber nitrogen, penyusun protein untuk

mengkordinasi aktivitas organisme, merespon sel terhadap rangsangan, dan mampu mempercepat reaksi-reaksi kimiawi secara selektif. Di dalam media kultur *in vitro*, asam amino merupakan sumber nitrogen organik yang lebih cepat diambil oleh eksplan daripada nitrogen yang terdapat di media untuk mendorong pertumbuhan sel dan regenerasi tanaman untuk melakukan perbanyakan (multiplikasi) (Sucandra, 2015).

Glutamin merupakan salah satu asam amino non essential yang dapat dibentuk dalam tubuh tumbuhan tetapi dalam jumlah terbatas, sehingga diperlukan tambahan dari luar tubuh tumbuhan. Menurut Asharo (2013), glutamin memiliki keutamaan dalam pertumbuhan sel yang optimal dalam kultur jaringan untuk menginduksi pembentukan maupun pertumbuhan tunas. Kebutuhan sel untuk tumbuh pada kultur jaringan lebih mengandalkan glutamin daripada asam amino yang lainnya. Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Maysyaroh and Netty (2018) bahwa penambahan glutamin 100 ppm memberikan hasil jumlah tunas tertinggi pada tanaman kentang (*Solanum tuberosum* L.) dengan rata-rata 25,03 tunas dibandingkan perlakuan dengan penambahan asam amino Kasein Hidrolisat, dan Glisin. Kemudian penelitian sejenis yang dilakukan oleh Sinha, and Miskat A.A.J (2012) bahwa penambahan glutamin 150 mg/l menunjukkan hasil tertinggi multiplikasi tunas anggrek ekor tupai (*Rhynchostylis retusa* Lin) dibandingkan dengan penambahan Kasein Hidrolisat dengan rata-rata 68,8 tunas. Glutamin merupakan sumber nitrogen yang baik untuk meningkatkan pertumbuhan tunas planlet yang ditumbuhkan secara *in vitro* (El-Shayeb *et al.* 2021). Nitrogen yang telah diserap kemudian digunakan untuk biosintesis komponen organik bernitrogen seperti klorofil dan nukleotida. Penambahan glutamin

pada media kultur menyebabkan eksplan tidak perlu melakukan sintesis glutamin dari NH_4^+ yang tersedia pada media karena salah satu sifat sel adalah lebih utama menggunakan persediaan nutrisi yang siap pakai untuk proses metabolismenya sehingga sel eksplan akan cepat terpacu untuk melakukan pembelahan sel (Asharo, 2013).

Beberapa hasil penelitian menunjukkan penambahan asam amino glutamin pada media *kultur in vitro* pada konsentrasi tertentu dapat meningkatkan multiplikasi tunas. Penelitian Harjdo (2013) dengan penambahan 100 mg/l asam amino glutamin dapat menghasilkan pertumbuhan tunas adventif tebu (*Saccharum officinarum*) yang meningkat dengan hasil yang baik dibandingkan dengan perlakuan tanpa penambahan glutamin. Kemudian penelitian Sinha, P and Miskat A.A.J (2012) menggunakan asam amino glutamin untuk mengamati perbanyakan tunas anggrek ekor tupai (*Rhynchostylis retusa* Lin.) dengan pemberian 150 mg/l asam amino glutamin menunjukkan hasil yang nyata terhadap pembentukan tunas baru dari eksplan tunas yang lama dengan rata-rata jumlah tunas terbanyak yaitu 68,8 tunas dan menunjukkan hasil panjang tunas tertinggi dengan rata-rata 2,6 cm selama 8 minggu setelah tanam. Selain itu, penggunaan asam amino glutamin pada tanaman anggrek tanah (*Spathoglottis plicata*) dengan konsentrasi 200 mg/l mampu menghasilkan rata-rata tunas tertinggi 70,7 dibandingkan dengan perlakuan lain (Sinha *et al*, 2009).

Pemberian kombinasi antara ZPT dan asam amino dapat meningkatkan hasil kualitas perbanyakan tanaman pada metode kultur *in vitro*. Hal ini sebagaimana penelitian yang telah dilakukan oleh Koolprueksee *et al* (2020), menunjukkan bahwa

perlakuan kombinasi TDZ dan asam amino glutamin memberikan tingkat multiplikasi *Dendrocalamus sericeus* yang tinggi sebesar 3,4 kali lipat dibandingkan dengan perlakuan tanpa penambahan glutamin. Namun, setiap tumbuhan yang ditumbuhkan secara *in vitro* memiliki kebutuhan nutrisi yang berbeda, termasuk jenis dan kadar penambahan ZPT dan asam amino pada media.

Bedasarkan latar belakang di atas, maka penelitian kombinasi TDZ dan asam amino glutamin pada media *Vacin and Went* (VW) untuk multiplikasi tunas *Protocorm Like Bodies* (PLB) anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) perlu dilakukan untuk mengetahui konsentrasi TDZ dan asam amino glutamin yang efektif. Penelitian ini juga merupakan salah satu wujud tadabbur pada ciptaan Allah SWT berupa tanaman anggrek yang sudah menjadi tugas manusia untuk mempelajarinya serta sebagai upaya untuk menjaga ciptaan Allah SWT.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang pada penelitian maka diambil rumusan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh pemberian TDZ terhadap multiplikasi tunas *Protocorm Like Body* (PLB) anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchbf.) secara *in vitro*?
2. Bagaimana pengaruh pemberian asam amino glutamin terhadap multiplikasi tunas *Protocorm Like Body* (PLB) anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchbf.) secara *in vitro*?

3. Bagaimana pengaruh pemberian kombinasi TDZ dan asam amino glutamin terhadap multiplikasi tunas *Protocorm Like Body* (PLB) anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchbf.) secara *in vitro*?

1.2 Tujuan

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan sebagai berikut:

1. Mengetahui pengaruh pemberian TDZ terhadap multiplikasi tunas *Protocorm Like Body* (PLB) anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchbf.) secara *in vitro*.
2. Mengetahui pengaruh pemberian asam amino glutamin terhadap multiplikasi tunas *Protocorm Like Body* (PLB) anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchbf.) secara *in vitro*.
3. Mengetahui pengaruh pemberian kombinasi TDZ dan asam amino glutamin terhadap multiplikasi tunas *Protocorm Like Body* (PLB) anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchbf.) secara *in vitro*.

1.3 Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Terdapat pengaruh pemberian TDZ terhadap multiplikasi tunas *Protocorm Like Body* (PLB) anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchbf.) secara *in vitro*.
2. Terdapat pengaruh pemberian asam amino glutamin terhadap multiplikasi tunas *Protocorm Like Body* (PLB) anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchbf.) secara *in vitro*.

3. Terdapat pengaruh pemberian kombinasi TDZ dan asam amino glutamin terhadap multiplikasi tunas *Protocorm Like Body* (PLB) anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchbf.) secara *in vitro*.

1.4 Manfaat

Manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memberikan informasi tentang pengaruh pemberian TDZ dan asam amino glutamin terhadap multiplikasi subkultur tunas *Protocorm Like Body* (PLB) anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) secara *in vitro*.
2. Memberikan informasi atau rujukan selanjutnya bagi instansi atau lembaga tertentu terkait perbanyakannya anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) secara *in vitro*.
3. Mampu memproduksi bibit anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) dalam waktu yang cepat dengan hasil yang banyak dengan kualitas yang sama dengan induknya.
4. Merupakan upaya pengembangan tanaman hias yang berpotensi langka.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah penelitian ini adalah:

1. Eksplan yang digunakan pada penelitian ini adalah tunas *in vitro Protocorm Like Bodies* (PLB) anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) yang diperoleh dari Handodjo Hardjo Orchid Lawang berumur tiga bulan, fase ke empat.
2. Media kultur yang digunakan adalah media VW (*Vacint Went*)

3. Penambahan TDZ dengan konsentrasi 0 mg/l, 0,25 mg/l, 0,5 mg/l, 0,75 mg/l, 1 mg/l, dan 1,25 mg/l.
4. Penambahan asam amino glutamin konsentrasi 0 mg/l, 50 mg/l, 100 mg/l, 150 mg/l, 200 mg/l dan 250 mg/l.
5. Hasil kultur disimpan di ruang inkubasi selama 60 hari dengan suhu 21°C dan intensitas cahaya 500 lux.
6. Parameter yang diamati secara kuantitatif yaitu hari muncul tunas setelah subkultur (HST), jumlah tunas, dan tinggi tunas dan secara kuantitatif yaitu warna tunas.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Umum Anggrek

Anggrek termasuk dalam famili *Orchidaceae* yang merupakan suatu keluarga tanaman bunga-bunga yang paling besar. Indonesia memiliki kurang lebih 5.000 spesies anggrek dari 20.000 sampai 30.000 spesies yang tersebar di seluruh dunia. Terdapat sekitar 25.000 jenis anggrek yang telah dideskripsikan (Purwanto, 2016). Sebanyak 1.327 jenis tumbuh di pulau Jawa dan selebihnya tumbuh di pulau Sumatera, Kalimantan, Sulawesi, Irian Jaya, dan pulau lainnya (Nurmaryam, 2011).

Allah SWT telah berfirman dalam Surah Al An'am ayat 99:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا
نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ النَّخْلِ قِنَاطٍ دَانِيَةً وَجَنَّتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ
وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۗ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ
لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ٩٩

Artinya: “Dan Dialah yang menurunkan air dari langit, lalu kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan, maka kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau, kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang kurma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan kami keluarkan pula zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya pada waktu berbuah, dan menjadi masak. Sungguh, pada yang demikian itu ada tanda-tanda kekuasaan Allah SWT bagi orang-orang yang beriman (Qs. Al-An'am:99)”.

Dari ayat diatas, dijelaskan Allah yang menurunkan air hujan, air hujan tersebut adalah rizki dan berkah bagi makhluk-Nya. Sehingga dari rizki dan berkah-Nya tersebut dapat menumbuhkan tumbuh-tumbuhan. Air dalam Bahasa Arab adalah maa', yang berarti air hujan, air laut atau benda yang cair. Dalam arti pertama (air hujan) air merupakan unsur yang sangat penting untuk kehidupan tumbuh-tumbuhan (Bucaille, 2001). Dengan air tersebut dapat menumbuhkan tumbuh-tumbuhan seperti kurma, delima, buah zaitun, anggur dan tanaman hias anggrek yang memiliki berbagai macam jenis yang tersebar di seluruh dunia

Bagian yang penting dari anggrek adalah bunga. Dari bunga inilah anggrek dapat dikenali dan dibedakan dengan tanaman yang lain. Anggrek memiliki bunga dengan bentuk yang indah. Tanaman anggrek dengan segala keunikannya yang memukau telah menarik perhatian para penggemar tanaman hias sejak dua abad yang lalu. Keindahan dan daya tarik anggrek terletak pada bentuk dan warna bunganya yang beraneka ragam.

Sebagaimana Firman Allah dalam Al-Qur'an Surah Qaff ayat 7 yang berbunyi:

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رَوَاسِيَ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ بَهِيجٍ ۝٧

Artinya: *“Dan Kami hamparkan bumi itu dan Kami letakkan padanya gunung-gunung yang kokoh dan Kami tumbuhkan padanya segala macam tanaman yang indah dipandang mata (Qs. Qaff: 7).”*

Al-Jazairi (2009) menerangkan bahwa Allah SWT telah menumbuhkan berbagai macam tanaman yang indah dan menarik di pandang mata. Menurut al-

Qurthubi (1995), kata **بيح** dalam ayat di atas memiliki arti indah atau bagus. Dari ayat di atas dapat diketahui bahwa alam memberikan kebaikan berupa keindahan yang salah satunya berada pada tanaman hias anggrek. Anggrek merupakan tanaman hias yang diciptakan oleh Allah SWT dengan nilai estetika tinggi karena berbunga indah dengan warna-warna yang menarik. Selain itu anggrek juga mempunyai daya tahan bunga yang cukup lama jika dibandingkan dengan tanaman yang lain (Sulistyo, 2018). Sifat-sifat bunga yang demikian ini menyebabkan anggrek banyak disenangi dan ditanam oleh para pengusaha tanaman hias maupun para penggemar anggrek.

2.2 Deskripsi Anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f)

Anggrek merupakan tumbuhan berbiji famili *Orchidaceae* yang merupakan tumbuhan herba perenial yang dapat hidup terestial atau epifit (Yulanda, 2011). Anggrek memiliki nilai jual yang cukup tinggi dalam industri pembudidayaan tanaman hias Indonesia karena memiliki keunikan bentuk bunga, ukuran, warna yang bervariasi, serta keawetan yang bunga yang bertahan lama. Keanekaragaman bunga Anggrek yang menjadi daya tarik sendiri bagi para ahli botani dan kolektor (Ferziana, 2013). Indonesia memiliki keanekaragaman jenis anggrek yang sangat tinggi, salah satu jenis anggrek populer yang berada di peringkat pertama adalah genus anggrek *Dendrobium* karena memiliki beberapa keistimewaan diantaranya adalah bentuk bunga yang sempurna dengan berbagai variasi warna, mahkota bunga tidak mudah rontok, dan kesegaran bunga yang tahan lama (Setiawati *et al.*, 2016).

Dendrobium berasal dari Bahasa Yunani. Dendos artinya pohon, sedangkan bios artinya hidup. *Dendrobium* mencerminkan tumbuhan yang menempel pada satu pohon sebagai epifit, namun juga dapat hidup di dalam pot dengan media tertentu (Prasetyo, 2009). Anggrek *Dendrobium* pertama kali ditemukan oleh Olof Swartz pada tahun 1997. Genus *Dendrobium* merupakan genus anggrek terbesar dan terbanyak yang berjumlah lebih dari 2000 spesies, termasuk salah satu kekeayaan alam Indonesia, yang jumlahnya diperkirakan mencapai 275 spesies (Tria Dewi, 2014). Penyebaran anggrek *Dendrobium* secara geografis berasal dari India, kemudian ke China, Jepang, Malaysia, Filipina, dan Pulau Pasifik Selatan yang tersebar di New Guinea, dan Gallis (Rusmiyati, 2015). Penyebaran *Dendrobium* lainnya di mulai dari Himalaya sampai Asia Tenggara yang meliputi Australia, Kepulauan Solomon, Selandia Baru, dan Indonesia. Habitat dari tanaman anggrek *Dendrobium* sangat luas, tanaman ini terdapat di atas pegunungan Himalaya, pada pesisir pulau-pulau kecil, dalam hutan-hutan lembab di tepi sungai, dan tidak sedikit pula yang tumbuh di padang pasir kering di Australia. (Assagaf, 2012).

Para ahli botani membagi genus *Dendrobium* menjadi 17-20 seksi yang tidak semuanya berada di Indonesia. Beberapa seksi yang banyak digunakan sebagai induk hibrida yang sangat dikenal di Indonesia antara lain seksi *Callista*, *Latourea*, *Eugenanthe*, *Palaenanthe*, dan *Ceratobium/Spatula*. Seksi *Ceratobium* memiliki kurang lebih 30 spesies yang dapat ditemukan mulai dari daerah Jawa bagian timur hingga New Guinea yang pada umumnya tumbuh di tropis basah lembab dan dataran rendah.

Anggrek *Dendrobium* seksi *Ceratobium* merupakan kelompok anggrek yang terkenal dan berkembang pesat sehingga menguasai pasar Asia Tenggara. Beberapa spesies yang banyak dikenal antara lain *Den. sutiknoi*, *Den. lasianthera*, *Den. leporium*, *Den. liniale*, *Den. bicaudatum*, *Den. stratiotes* dan *Den. antennatum*.

Anggrek *Dendrobium stratiotes* merupakan anggrek endemik Maluku yang menyukai tempat yang teduh di hutan-hutan basah di ketinggian 600-1.000 mdpl. Daerah penyebarannya meliputi Sumatera, Kalimantan, Sulawesi, Maluku dan Jawa (Parnata, 2005). Karakter dari anggrek *Dendrobium stratiotes* ini memiliki kesamaan dengan beberapa jenis anggrek spesies lainnya yaitu *Dendrobium antennatum*, *Dendrobium bicaudatum* dan *Dendrobium leporinum*. Dari bentuk bunga, bentuk tanaman dan lingkungan hidup jenis-jenis anggrek tersebut memiliki kesamaan. Namun ukuran bunga dari Anggrek *Dendrobium Stratiotes* ini lebih besar dari Anggrek *Dendrobium antennatum*. Keistimewaan dari anggrek *Dendrobium stratiotes* yakni memiliki bunga yang unik dengan ciri-ciri bunga petal berbentuk spiral, aroma bunga yang harum, dan memiliki bunga yang awet tidak mudah rontok. Anggrek *Dendrobium stratiotes* juga dijadikan sebagai induk persilangan, maka dari itu diperlukan upaya yang efektif menjaga kelestariannya (Sulistyo, 2018).

Klasifikasi Anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) (Plantamor, 2021)

Kingdom: Plantae

Divisi: Magnoliophyta

Class: Liliopsida

Ordo: Aspargales

Famili: Orchidaceae

Subfamili: Epidendroideae

Genus: *Dendrobium*

Species: *Dendrobium stratiotes* Rchb.f

2.2.1 Morfologi Anggrek *Dendrobium stratiotes* Rchb.f

a. Akar

Umumnya, akar anggrek *Dendrobium* sp mempunyai bentuk yang silindris, berdaging, lunak, mudah patah, bagian ujung akar meruncing, licin, dan sedikit lengket. Dalam keadaan kering, akar tampak berwarna putih keperak-perakan dan hanya bagian ujung akar saja yang berwarna hijau atau tampak agak keunguan. Akar yang sudah tua akan berwarna coklat tua dan

kering, akar-akar yang sudah kering dan mati akan digantikan oleh akar yang baru tumbuh (Andriyani, 2017).



Gambar 2.1 Akar Anggrek *Dendrobium Stratiotes* (Rchb.f)

(Sumber: Rowe, 2017)

Akar anggrek *Dendrobium* sp berfungsi sebagai tempat menempelnya tanaman pada media tumbuh, dan akar ini memiliki lapisan filamen. Filamen merupakan lapisan luar yang terdiri dari beberapa lapis sel berongga dan transparan, serta merupakan lapisan pelindung pada sistem saluran akar. Dibawah lapisan filamen, terdapat lapisan yang mengandung klorofil (Andriyani, 2007). Menurut Darmono, (2004), filamen ini berfungsi untuk melindungi akar dari kehilangan air selama proses transpirasi dan evaporasi, menyerap air, melindungi bagian dalam akar, serta membantu melekatnya akar pada benda yang ditumpangnya.

Air atau hara yang langsung mengenai akar akan diabsorpsi (diserap) oleh filamen dan ujung akar, hanya air dan hara yang diserap melalui ujung akar saja yang dapat disalurkan ke dalam jaringan tanaman (Andiani, 2016). Di

habitatnya, anggrek menempelkan akarnya pada cabang-cabang pohon yang besar dan rindang, fungsinya untuk menjaga posisi dan kedudukan pada tumbuhan inang agar cukup mendapat sinar matahari. Akar lekat dapat menjalar ke seluruh substrat tempatnya menempel, sehingga memperkuat kedudukan tanaman. Selain akar lekat, anggrek memiliki akar udara yang berfungsi menyerap air atau unsur-unsur hara lainnya (Andriyani, 2017).

b. Batang

Berdasarkan arah pertumbuhannya, batang anggrek dapat dibagi menjadi dua golongan, yaitu tipe monopodial dan simpodial. Anggrek dengan tipe batang monopodial adalah anggrek yang pertumbuhan batangnya lurus ke atas pada satu batang tanpa batas. Anggrek yang tergolong jenis ini tidak memiliki rizoma maupun umbi semu (Andriyani, 2017).



Gambar 2.2 Batang Anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f)

(Dokumentasi Kebun Pakde Orchid, 2021).

Tanaman anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rhcb.f) merupakan anggrek yang berhabitus simpodial, yaitu memiliki titik pertumbuhan lebih dari satu

atau bercabang dan mempunyai pertumbuhan batang yang terbatas (De *et al*, 2015). Batang berupa batang semu dengan bentuk menyerupai umbi serta menebal (*pseudobulbs*), berwarna hijau atau coklat, beruasruas, dan pada setiap ruas batang terdapat daun sisik. Batang *Dendrobium* tumbuh secara bergerombol antara 2-3 batang. Tunas anakan tersebut tumbuh dari rizom yang menghubungkannya dengan tanaman induk (Andiani, 2016). Anggrek tipe batang simpodial akan mengeluarkan bunga dari ujung batang dan akan berbunga kembali pada pertumbuhan anakan atau tunas baru. (Andryani, 2017).

c. Bunga

Bunga anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) termasuk dalam pembungaan majemuk dengan tipe *racemus*. Memiliki bentuk bunga bertanduk, dengan bentuk petal yang melintir dan bagian sepal lateral dan sepal dorsal melengkung ke belakang. Dalam satu rangkaian bunga terdapat kurang lebih 8 kuntum bunga. Ciri khas dari bunga anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) adalah pada bagian labellum mempunyai warna putih dengan pola garis berwarna ungu pada bagian keping sisi dan keping tengah. Bunga anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) memiliki aroma bunga yang harum dan ukuran bunga yang besar. Tangkai kuntum bunga anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) berwarna putih dan terdapat pola garis bagian ujung berwarna coklat muda dengan panjang 7 sampai 30 cm.



Gambar 2.3 Bunga Anggrek *Dendrobium Stratiotes* (Rchb.f)

Morfologi dan bagian-bagian bunga *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f.) a = sepal dorsal, b = sepal lateral, c = petal, d = labellum (Dokumentasi DD' Orchids Nursery, 2021).

Sepal lateral Bunga *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) bagian depan dan belakang berwarna putih dengan bagian tepi rata dan bergelombang. Bagian pangkal *sepal lateral* mempunyai satu sisi yang lebih panjang dan bagian ujungnya lancip. Sedangkan *sepal dorsal* bunga *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) bagian depan dan belakang berwarna putih dengan bagian tepinya rata, bagian pangkal berbentuk cekung dengan ujung yang lancip dan ujung melintir. *Petal* bunga *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) bagian depan dan belakang mempunyai hijau dan putih di bagian pangkal berbentuk lurus dan melintir. Pelintiran tiap kuntum bunga berjumlah 4 dengan panjang dapat mencapai 8 cm (Rajkarnikar, 2014).

d. Daun

Bentuk daun tanaman anggrek menyerupai jenis tanaman monokotil pada umumnya, yakni memanjang seperti pedang dan ukuran panjang daun bervariasi, selain itu memiliki ketebalan yang berbeda tergantung jenisnya. Anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) memiliki bentuk daun bulat telur dengan panjang 8-14 cm (Yusnita, 2010). Tulang daun sejajar dengan tepi daun sejajar, dan berakhir diujung daun. Susunan daun berseling-seling atau berhadapan dengan warna hijau muda atau hijau tua, (Andiani, 2016). Beberapa jenis anggrek *Dendrobium* sp ada yang menggugurkan daunnya setelah usia 1 – 2 tahun dan berbunga dari batang-batang gundul, namun ada juga yang tetap bertahan hijau dan berbunga terus-menerus (Assagaf, 2012).



Gambar 2.4 Daun Anggrek *Dendrobium Stratiotes* (Rchb.f)

(Dokumentasi Kebun Pakde Orchid, 2021).

e. Buah

Bentuk buah anggrek berbeda-beda tergantung jenisnya, akan tetapi rata-rata merupakan buah lentera atau capsular yang memiliki enam rusuk. Tiga rusuk merupakan rusuk sejati, sedangkan tiga rusuk lainnya merupakan tempat

melekatnya dua tepi daun buah yang berlainan. Ditempat bersatunya tepi daun buah itu terdapat biji yang ketika masak akan pecah. Dalam satu buah sebesar kelingking terdapat ratusan ribu bahkan jutaan biji anggrek yang sangat lembut dengan ukuran yang sangat kecil. Biji-biji anggrek tersebut tidak memiliki endosperm sebagai cadangan makanan (Andiani, 2016).



Gambar 2.5 Buah Anggrek *Dendrobium Stratiotes* (Rchb.f) (Sumber: Kiyanti, 2008).

Kematangan buah sangat bergantung pada jenisnya. Misalnya, pada *Dendrobium* akan matang dalam 3-4 bulan. Pada anggrek *Vanda*, umumnya matang setelah 6-7 bulan. Sementara itu, pada anggrek *Cattleya*, buah matang setelah 9 bulan. Buah anggrek merupakan buah lentera, artinya buah akan pecah ketika matang. Bagian yang membuka adalah bagian tengahnya, bukan di ujung atau pangkal buah (Andriyani, 2017).

Biji anggrek berada di dalam buah dengan jumlah 1.300-4.000.000 biji pada setiap buahnya. Biji tersebut berukuran sangat kecil dengan panjang 1-2 mm dan lebar 0,5-1 mm (Edgar dan Cruz, 2012). Secara alamiah biji tersebut

bersimbiosis dengan mikoriza yang menyediakan nitrogen, fosfat, serta mineral lainnya untuk dapat berkecambah dan berkembang lebih lanjut (Goswani *et al*, 2015). Biji anggrek yang berkecambah akan membentuk suatu struktur yang disebut protokorm (Fang, 2016). Bentuk biji dari anggrek *Dendrobium stratiotes* dapat dilihat pada Gambar 2.6



Gambar 2.6 Biji Anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f)

(Sumber: Kiyanti, 2008)

2.3 Kultur *In Vitro*

Kultur jaringan (*in vitro*) adalah suatu metode mengisolasi bagian tanaman seperti protoplas, sel, jaringan atau organ, serta menumbuhkannya dalam kondisi aseptik, sehingga bagian-bagian tanaman tersebut dapat tumbuh dan memperbanyak diri serta beregenerasi menjadi tanaman lengkap (Ibrahim, 2015). Kultur *in vitro* dilakukan pada media buatan yang mengandung nutrisi dengan suhu dan pencahayaan terkontrol agar tumbuh dengan baik dengan arah tertentu yang di kehendaki misalnya tanaman utuh, organ atau lainnya. Istilah *in vitro* merupakan dalam tabung. Kultur tanaman secara *in vitro* dapat dilakukan didalam dalam suatu wadah kultur yang terbuat dari kaca atau plastik transparan bisa berupa tabung, botol, cawan petri, atau suatu

toples dengan struktur tertentu. Istilah kondisi aseptik bisa dikatakan bebas dari mikroorganisme, bersih, steril (Hapsoro, 2018).

Perkembangan awal teknik kultur jaringan didasari oleh teori totipotensi yang dikemukakan oleh Schwan dan Scleiden pada tahun 1838 yang menyatakan bahwa setiap sel, jaringan dan organ memiliki potensi untuk beregenerasi menjadi tanaman lengkap (Prasetyorini, 2019). Manfaat kultur *in vitro* adalah untuk menghasilkan bibit dalam jumlah yang banyak tanpa memerlukan induk yang banyak dalam waktu yang relatif singkat. Selain itu juga memiliki fungsi eliminasi suatu penyakit atau produksi bibit bebas penyakit, kelestarian plasma nutfah, memperoleh varietas unggul dan produksi senyawa metabolit sekunder. Oleh karena itu, teknik kultur jaringan sangat penting di terapkan dalam perbanyakan tanaman baik untuk tanaman pertanian maupun tanaman perkebunan (Hapsani, 2016).

Tahapan kultur *in vitro* antara lain mengisolasi bagian-bagian tanaman (eksplan) yang akan digunakan seperti meristem, tunas, batang, anther, daun, embrio, hipokotil, biji, rhizome, dan akar yang kemudian menumbuhkannya secara terpisah dalam medium sesuai perlakuan yang dibutuhkan. Kemudian eksplan diinduksi untuk membentuk suatu struktur sesuai tujuan. Selanjutnya diregenerasikan menjadi suatu tanaman yang lengkap untuk menuju proses aklimatisasi dipindahkan ke lapangan. Keberhasilan dalam kultur *in vitro* sangat dipengaruhi oleh kondisi aseptik eksplan, lingkungan yang terkendali yang meliputi cahaya, pH (Prasetyorini, 2019). Multiplikasi merupakan tahap perbanyakan eksplan dengan subkultur yang merupakan

proses pemindahan eksplan pada media baru secara berulang-ulang untuk mempertahankan stok nutrisi tanaman. Pengakaran merupakan tahap terakhir sebelum eksplan dipindahkan ke lingkungan luar, sedangkan aklimatisasi merupakan pemindahan eksplan dari lingkungan yang terkendali dalam botol ke lingkungan alam luar (Kumar & Reddy, 2011).

2.4 Faktor-Faktor yang mempengaruhi Kultur *In Vitro*

Keberhasilan kultur jaringan tanaman dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya yaitu pemilihan bahan eksplan, sterilisasi, faktor lingkungan seperti pH, cahaya dan temperatur, media, serta kandungan ZPT (Zat Pengatur Tumbuh) dalam medium kultur (Pangestika, 2015).

2.4.1 Eksplan

Eksplan yang digunakan dalam kultur *in vitro* dapat berupa meristem, tunas, batang, anther, daun, embrio, hipokotil, biji, rhizome, dan akar. Eksplan yang digunakan biasanya merupakan bagian tanaman yang sel-selnya masih aktif membelah dari tanaman induk sehat dan berkualitas (Santoso & Nursandy, 2004). Bagian tanaman yang masih aktif membelah ini biasanya memiliki daya regenerasi yang tinggi dan masih mengandung sedikit kontaminan (Yusnita, 2003). Selain itu, eksplan dengan ukuran kecil (<20 mm) akan memiliki kemungkinan kontaminasi lebih kecil dengan daya tahan eksplan rendah daripada eksplan yang berukuran lebih besar (>20 mm) (George & Sherrington, 1984).

2.4.2 Sterilisasi

Sterilisasi merupakan langkah penting yang harus dilakukan untuk menghilangkan kontaminan pada proses kultur *in vitro*. Salah satu faktor pembatas dalam keberhasilan kultur jaringan adalah kontaminasi yang dapat terjadi pada setiap saat dalam proses masa kultur. Menurut Sulistiyo (2018), Kontaminasi merupakan gangguan yang sering terjadi pada kultur jaringan, yang dapat terdiri dari bakteri, jamur, atau virus. Untuk mencegah kontaminasi, dapat dilakukan teknik sterilisasi yang tepat baik terhadap eksplan yang digunakan, alat, bahan serta lingkungan kerja. Menurut Hapsoro (2018), kontaminasi kultur oleh mikroorganisme ini sangat umum dihadapi dan berpotensi menyebabkan kerugian yang besar apabila tidak ditangani dengan sistematis. Kontaminasi eksplan bisa disebabkan oleh berbagai faktor, misalnya bahan tanaman, sumber eksplan mengandung bakteri, sterilisasi eksplan tidak efektif, pencucian botol kurang bersih, dan sterilisasi media tidak sempurna. Sulisty (2018) menjelaskan bahwa, kegiatan sterilisasi bertujuan untuk mengeliminasi patogen atau cendawan yang mungkin terbawa saat pengambilan eksplan, yang dapat menimbulkan kontaminasi sehingga menghambat pertumbuhan eksplan menjadi tanaman utuh. Bahan desinfektan yang dapat digunakan menjadi tanaman untuk sterilisasi media dalam kultur jaringan, diantaranya yang umum dikenal adalah HgCl_2 dan NaClO .

2.4.3 Media kultur

Media merupakan salah satu faktor keberhasilan perbanyakan melalui kultur jaringan. Keberhasilan perbanyakan dan perkembangbiakan tanaman anggrek dengan

metode kultur jaringan sangat tergantung pada jenis media. Media tumbuh multiplikasi tunas anggrek pada kultur jaringan sangat besar pengaruhnya terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan serta bibit yang dihasilkannya (Tuhuteru *et al*, 2012). Menurut Sucandra *et al.* (2015), media VW (*Vacin and Went*) adalah media dasar yang digunakan dalam kultur jaringan tanaman anggrek. Media ini merupakan media sederhana yang hanya terdiri dari senyawa-senyawa yang mengandung unsur hara makro dan mikro yang dalam penggunaannya untuk media tanam anggrek sering ditambahkan N-organik. Hasil penelitian Kasutjianingati dan Irawan (2013) menyatakan bahwa media VW (*Vacin dan Went*) mampu mendorong pembentukan PLB (*Protocorm Like Body*) sebagai calon tanaman.

Tabel 2.1 Komposisi media dasar (VW) *Vacin Went* (Sumber: Paek *et al.*, 2017)

Komponen	Konsentrasi (mg/L)
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	500
$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	200
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	250
KNO_3	525
KH_2PO_4	250
$\text{Fe}_2(\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6)_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	28
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	7,5

Media tumbuh kultur *in vitro* terdiri dari garam-garam mineral, sumber karbohidrat, vitamin, zat pengatur tumbuh serta suplemen lain seperti senyawa-senyawa nitrogen organik dan asam-asam organik (Gamborg dan Skyluk, 1981). Karbohidrat dalam kultur jaringan berfungsi sebagai sumber energi dan menjaga keseimbangan tekanan osmotik dalam medium. Sukrosa digunakan sebagai sumber karbon dengan kadar 2-5% (Pierik, 1987). Asam amino tertentu seperti analin, asam glutamat, glutamin dapat merangsang pertumbuhan eksplan (Staba, 1982).

Derajat keasaman (pH) pada media juga berpengaruh terhadap pertumbuhan eksplan. Media perlu diatur pH nya agar fungsi membran sel dan sitoplasma tidak terganggu pada saat eksplan ditanam (Gunawan, 1992). Media yang sesuai untuk pertumbuhan eksplan yaitu 5-6. Media dengan pH terlalu rendah (<4,5) dan terlalu tinggi (>7,0) akan mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan eksplan menjadi abnormal. Senyawa yang biasa ditambahkan pada media yang terlalu asam adalah NaOH, sedangkan untuk media yang terlalu basa adalah HCl (Pierik, 1987). Manfaat pH dalam media yaitu untuk membantu penyerapan unsur hara dan menjaga kestabilan membran sel dalam mengatur garam-garam agar tetap dalam bentuk terlarut (George dan Sherrington, 1984). Apabila pH terlalu tinggi dapat dilakukan penurunan pH dengan menambahkan HCl dan jika terlalu rendah dapat ditambahkan NaOH (0,1-1,0 M) untuk meningkatkan pH. Nilai pH terlalu tinggi dapat menyebabkan pertumbuhan eksplan terhenti dan jika pH terlalu rendah dapat menyebabkan hormon menjadi kurang stabil (Pierik, 1987).

2.4.4 Suhu dan Lingkungan

Faktor lingkungan juga dapat mempengaruhi keberhasilan kultur *in vitro* seperti tempat peletakan botol kultur. Suplai oksigen yang cukup mampu mendukung laju pertumbuhan eksplan. Temperatur yang optimum juga dibutuhkan eksplan dalam perbanyakan secara *in vitro*. Temperatur normal yang biasa digunakan yaitu antara 22°C-28°C. Sedangkan kisaran intensitas cahaya untuk inisiasi yaitu 0-1000 lux, untuk multiplikasi 1000-10000 lux, pengakaran 10000-30000 lux dan >30000 lux untuk aklimatisasi. Namun, perkembangan embrio membutuhkan tempat gelap kira-kira selama 7-14 hari dan setelah itu dapat dipindahkan di tempat terang untuk membentuk klorofil. Selain itu, sel-sel yang dikembangkan dengan kultur *in vitro* memiliki kisaran pH yang relatif sempit yaitu sekitar 5,0-6,0. Kondisi lingkungan lain yang harus dibentuk dalam kultur *in vitro* adalah aseptis. Lingkungan aseptis akan menurunkan tingkat kontaminan, sehingga mampu meningkatkan keberhasilan dalam proses kultur *in vitro* (Santoso & Nursandi, 2004).

Faktor lain yang biasa terjadi pada kultur *in vitro* adalah *browning*, vitrifikasi, nekrosis, dan subkultur. *Browning* (pencoklatan) adalah suatu keadaan munculnya warna coklat atau hitam akibat diakibatkan oleh pengaruh fisik maupun biokimia seperti memar, luka atau adanya kandungan senyawa fenolik yang menyebabkan terhambatnya pertumbuhan dan perkembangan atau bahkan menyebabkan kematian pada eksplan. Faktor keberhasilan kultur *in vitro* selanjutnya adalah Subkultur, yakni usaha untuk menggantikan media dalam kultur *in vitro* dengan media yang baru,

sehingga kebutuhan nutrisi untuk pertumbuhan kalus dapat terpenuhi. Subkultur merupakan salah satu tahap dalam memperbanyak tanaman melalui kultur jaringan. Pada dasarnya subkultur adalah memotong, membelah dan menanam kembali eksplan yang telah tumbuh sehingga jumlah tanaman akan bertambah banyak. Waktu pelaksanaan subkultur tergantung pada beberapa hal, misalnya eksplan yang ada dalam botol sudah tumbuh setinggi botol, atau eksplan tersebut sudah berada lama di dalam botol sehingga pertumbuhannya sudah mulai berkurang akibat mulai kekurangan hara.

2.5 Zat pengatur tumbuh

Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) adalah senyawa organik bukan hara yang dalam konsentrasi rendah dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman. ZPT yang disintesis oleh tanaman disebut fitohormon atau hormon tanaman. Keberadaan ZPT dalam media kultur sangat penting karena berperan dalam mendorong atau menghambat pertumbuhan dan menentukan arah perkembangan eksplan yang dikulturkan (Hapsoro, dan Yusnita, 2018). Keseimbangan dan interaksi antara zat pengatur tumbuh yang berada di dalam eksplan. Zat pengatur tumbuh yang ada di dalam eksplan sendiri ditentukan oleh zat pengatur tumbuh yang ada di dalam eksplan (endogen) dan zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke dalam medium. Oleh karenanya dalam pembuatan medium selain nutrisi biasanya perlu juga menambahkan satu atau lebih zat pengatur tumbuh tersebut. Zat pengatur tumbuh dapat memacu pertumbuhan seperti auksin, sitokinin, giberelin yang ditambahkan ke dalam medium. Hal ini dilakukan supaya pertumbuhan jaringan-jaringan dan organ-organ menjadi

lebih baik. Akan tetapi kebutuhan senyawa-senyawa tersebut bervariasi cukup besar antara jaringan yang satu dengan jaringan yang lainnya, dan diyakini variasi ini tergantung kepada tingkat endogenus hormon dari sel tersebut (buku kuning). Terdapat empat golongan zat pengatur tumbuh (ZPT) yang penting dalam kultur jaringan tanaman, yaitu auksin, sitokinin, giberelin dan asam absisik. (Ibrahim, 2015). Zat pengatur tumbuh yang berfungsi untuk pertumbuhan tanaman maupun pembentukan anakan serta perpanjangan akar tergolong kedalam kelompok auksin. Sedangkan zat pengatur tumbuh yang berperan dalam menstimulasi pembelahan sel, menginduksi pembentukan tunas dan poliferasi tunas aksiler serta dapat membantu pertumbuhan dan perkembangan eksplan termasuk golongan sitokinin (Saepudin. 2020).

Sitokinin merupakan fitohormon yang berperan dalam beberapa proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman adalah salah satu zat pengatur tumbuh yang ditemukan pada tanaman. Sitokinin berfungsi untuk memacu pembelahan sel dan pembentukan organ. Peran fisiologis sitokinin adalah mendorong pembelahan sel, morfogenesis, pertunasan, pembentukan kloroplas, pembentukan umbi pada kentang, pemecahan dormansi, pembukaan stomata, pembungaan dan pembentukan buah partenokarpi, meningkatkan klorofil daun, serta memperlambat proses penuaan (*senescence*) pada daun, buah dan organ lain pada tanaman (Hapsani, 2016). Pada medium kultur jaringan, sitokinin ditambahkan untuk tujuan peningkatan pembelahan sel dan diferensiasi tunas-tunas adventif dari kalus dan organ-organ (Ibrahim, 2015). Sitokinin dalam proses pembelahan sel memiliki peran pada dua tahap. Tahap pertama,

dalam siklus sel sitokinin memiliki peranan penting yaitu memacu sitokinesis dengan cara meningkatkan peralihan G2 ke mitosis sekaligus meningkatkan laju sintesis protein. Beberapa protein tersebut merupakan protein pembangun atau enzim yang dibutuhkan untuk mitosis. Sitokinin juga memperpendek fase S dengan cara mengaktifkan DNA, sehingga salinan DNA menjadi dua kali lebih besar kemudian laju sintesis DNA digandakan. Tahap kedua, sitokinin mampu mempengaruhi gen KNOX (Knotted like homebox), yaitu gen pengkode suatu protein yang memacu pertumbuhan dan pemeliharaan meristem ujung batang agar sel-selnya selalu bersifat meristematik (Wijayani & Mudyantini, 2007).

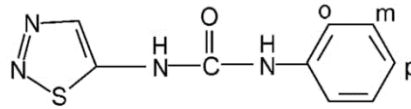
Berdasarkan struktur kimianya, ada dua jenis sitokinin, yaitu sitokinin derivat adenin (*adenine-type cytokinins*) dan sitokinin derivat fenil-urea (*phenyl urea type cytokinins*). Contoh sitokinin derivat adenin adalah benziladenin (BA) atau benzilaminopurin (BAP), kinetin, 2Ip, zeatin, dan zeatin ribosida. Sementara itu, contoh sitokinin derivat fenil urea adalah thidiazuron (TDZ) dan CPPU (Hapsoro dan Yusnita, 2018).

2.6 Thidiazuron

Thidiazuron (TDZ) salah satu sitokinin yang digunakan untuk regenerasi tunas. TDZ merupakan senyawa sintetik seperti fenil urea sitokinin yang efektif dalam mempercepat regenerasi tanaman melalui organogenesis atau embriogenesis serta merangsang perbanyakan tunas (Malabadi *et al.*, 2004). Thidiazuron merupakan ZPT yang dapat berperan menjadi inhibitor sitokinin oksidase yaitu suatu enzim yang dapat

menghilangkan keaktifan pada sitokinin tipe adenine bebas. Sehingga Thidiazuron dapat meningkatkan kinerja sitokinin yang lain, baik sitokinin endogen maupun sitokinin eksogen. Thidiazuron tergolong sitokinin tipe phenylurea sintetik dimana memiliki kemampuan yang lebih baik dalam induksi tunas daripada sitokinin yang lain seperti benzylaminopurin (BAP), kinetin dan zeatin (Aisah, 2020). TDZ mampu meningkatkan biosintesis dan akumulasi turunan adenin endogen sehingga induksi pucuk lebih cepat dan tunas yang terbentuk lebih banyak (Kumari *et al.*, 2017). Khawar *et al.*, (2004) menyebutkan bahwa thidiazuron (TDZ) dapat menginduksi perbanyakan tunas dalam jumlah yang lebih banyak dan dalam waktu yang lebih singkat.

Thidiazuron merupakan sitokinin yang sering digunakan dalam kultur *in vitro*. Beberapa laporan tentang anggrek telah sepakat bahwa TDZ sangat efektif merangsang pembentukan dan pemanjangan tunas (Parthibhan *et al.*, 2015). Sebagaimana penelitian yang dilakukan Swandra dan Netty (2012), pemberian konsentrasi 0,25 TDZ mg/l pada media multiplikasi Tunas Andalas (*Morus macroura* Miq. var. *macroura*) memberikan hasil jumlah tunas tertinggi dengan rata-rata 12,67. Selanjutnya, Rineksane *et al.*, 2018 menyatakan dengan penambahan 0,5 mg/l TDZ menghasilkan jumlah tunas terbanyak dengan rata-rata 1,80 pada pertumbuhan *Protocorm Like Bodies* (PLB) anggrek *Vanda tricolor*. Kemudian penelitian Karyanti (2017) pada anggrek *Vanda douglas*, menyatakan bahwa pertambahan tunas terbaik dengan rata-rata jumlah tunas 8.00 diperoleh pada perlakuan konsentrasi TDZ 0,5 mg/l, dibandingkan dengan konsentrasi 1 mg/l dan 1,5 mg/l.



Gambar 2.7 Struktur Molekul Thidiazuron (Sumber: Gunawan, 1998)

2.7 Multiplikasi Tunas

Proses regenerasi eksplan dalam kultur jaringan mengalami dua jalur utama yakni embriogenesis somatik dan organogenesis. Masing-masing terbagi lagi menjadi dua cara, yakni secara langsung (*direct*), dan secara tidak langsung atau melalui fase kalus (*indirect*) (Dwiyani, 2015). Embriogenesis merupakan bagian dari proses morfogenesis yang memiliki sifat bipolar yang mampu membentuk dua arah pertumbuhan dalam satu eksplan, yaitu bakal tunas dan bakal akar dalam waktu yang relatif sama. Sedangkan, organogenesis merupakan proses diferensiasi yang bersifat unipolar, dimana eksplan hanya akan tumbuh membentuk tunas atau akar saja (Manuhara, 2015).

Organogenesis dalam kultur jaringan berdasarkan proses terbentuknya organ dan jaringan eskplan dibedakan menjadi organogenesis secara langsung dan organogenesis secara tidak langsung (Dwiyani, 2015). Organogenesis dapat dilakukan pada sel-sel yang bersifat meristematik dan kompeten, yaitu sel-sel yang mampu memberikan tanggapan terhadap sinyal lingkungan atau hormonal sehingga berakhir dengan terbentuknya organ (Tyas *et al*, 2016). Pada dasarnya regenerasi tanaman melalui organogenesis dibedakan menjadi tiga tipe yaitu, organogenesis secara

langsung dari eksplan yang memiliki primordia tunas yakni jika jaringan eksplan yang digunakan memiliki bakal tunas (*pre-existing*), tunas lateral (*laterally buds*), dan irisan buku atau ruas pada batang (*nodul segmen*) dapat dijadikan bahan eksplan dengan penambahan hormon sitokinin untuk induksi tunas dan akan memunculkan tunas-tunas tidak hanya satu, tetapi terjadi poliferasi sehingga muncul dalam jumlah banyak. Kemudian organogenesis secara langsung dari eksplan yang tidak memiliki primordia tunas yaitu jika eksplan tidak memiliki bakal tunas dan dapat terjadi muncul tunas dari irisan daun yang kemudian di tanam pada media dasar tanpa hormon dan di subkultur ke media untuk induksi akar untuk menghasilkan planlet. Selanjutnya organogenesis secara tidak langsung melalui fase kalus dimana kalus tersebut di subkultur ke media dengan penambahan hormon untuk induksi tunas selanjutnya tunas-tunas dipindahkan ke media pengakaran untuk membentuk planlet secara utuh. (Dwiyani, 2015). Organogenesis untuk regenerasi tunas dapat dilakukan melalui dua tahap yaitu induksi tunas dan multiplikasi tunas (Manuhara, 2014).

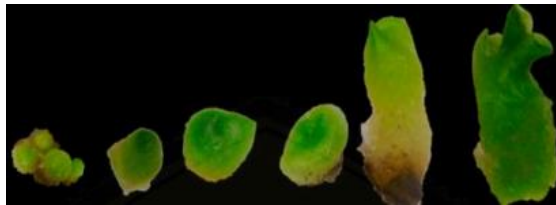
Proses penggandaan tunas yang dipelihara dalam kondisi tertentu sehingga sewaktu-waktu dapat digunakan untuk proses berikutnya disebut multiplikasi. Multiplikasi juga dapat diartikan sebagai penggandaan tunas dari hasil inisiasi mata tunas ataupun kalus. Multiplikasi menunjukkan hasil pembentukan tunas adventif dan tunas aksilar dalam jangka waktu yang sama (Azizi *et al*, 2017). Bagian tanaman yang umumnya digunakan untuk multiplikasi adalah *shoot tip* dan bagian binodal. *Shoot tip* merupakan pucuk yang terdiri dari jaringan meristem apical dengan beberapa

primordia daun (Buitevelds *et al.*, 1993). Beberapa hal yang dapat mempengaruhi keberhasilan multiplikasi tunas *in vitro* adalah komposisi media, jenis hormon, jenis eksplan, ukuran eksplan, dan kepadatan eksplan (Azizi, dkk. 2017). Jenis eksplan berupa jumlah tunas per eksplan menjadi faktor percobaan karena berkaitan dengan efisiensi penggunaan sumber eksplan dalam perbanyak tunas *in vitro*. Pemilihan eksplan yang tepat semakin kecil ukuran eksplan, maka waktu inisiasi juga membutuhkan waktu yang lama. komposisi medium tumbuh dan zat pengatur tumbuh yang sesuai karena setiap jenis tanaman yang berbeda atau bahkan bagian organ/sel/ jaringan yang sama dapat memberikan respon yang berbeda. Umumnya, pembentukan tunas lebih di pengaruhi oleh hormon sitokinin. Kemudian keadaan lingkungan yang aseptik serta pengaturan udara yang baik, dan cara sterilisasinya (Akbar *et al*, 2017).

2.8 Protocorm Like Body (PLB)

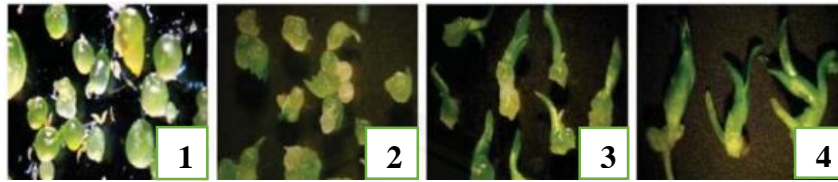
Protocorm merupakan biji yang berisi embrio yang belum terorganisir, terdiri dari beberapa ratus sel yang selama perkecambahan biji membentuk struktur berupa umbi (Zulkarnain, 2009). *Protocorm like body* (PLB) adalah suatu struktur yang berbentuk bulatan-bulatan yang dibentuk oleh jaringan eksplan dan atau kalus *in vitro*. *Protocorm like body* (PLB) akan membentuk pucuk dan akar sebagai awal perkecambahan pada biji yang tidak mempunyai endosperm (Hardjo *et al*, 2016). Rasmusses (1995) menyatakan bentukan spesifik dari *protocorm* anggrek berbentuk bulat dan isodiametrik seperti bawang. Tanda-tanda biji anggrek berkecambah ialah

biji kelihatan berwarna kuning hijau dan membentuk bulatan seperti gelembung yang disebut dengan *protocorm* (Gunawan, 1998). Pada tahap awal perkembangan PLB akan terbentuk daun kemudian dilanjutkan dengan pembentukan akar yang muncul pada bagian bawah daun atau di bagian basal PLB (Lee *et al.*, 2013)



Gambar 2.8 *Protocorm Like Bodies (PLB)* (Sumber: Fang *et al.*, 2016)

Perkembangan biji anggrek mengalami 5 fase yaitu; (1) *yellowish clb* merupakan tahapan saat PLB berwarna putih kekuningan dan transparan, dengan struktur menyerupai kalus yang kompak dan keras; (2) *greenish clb* yaitu PLB yang mulai berwarna hijau dan pada tahap ini PLB yang dikultur dapat diinduksi untuk tetap membentuk PLB atau diinduksi menjadi tunas; (3) *shootlike bodies*, tahap daun primordial tunggal telah terbentuk; (4) Tunas, yaitu ketika PLB telah membentuk daun 1-2 calon daun dengan lamina yang jelas, berwarna hijau tua dan terkadang juga disertai tumbuhnya nodul akar di bagian basal PLB; (5) planlet, yaitu tahap pertumbuhan lanjut dari tunas yang telah membentuk daun serta akar yang tampak jelas (Dorusposari, 2003).



Gambar 2.9 PLB pada Tahap Perkembangan 1, 2, 3, dan 4 (Sumber; Paul *et al*, 2012)

Pada anggrek ada beberapa metode mikropropagasi berdasarkan macam eksplan, antara lain organogenesis langsung membentuk tunas dari eksplan potongan nodus dari batang induksi planlet dari embrio/biji anggrek, serta pembentukan PLB dari pucuk, ujung akar, batang, tangkai bunga, dan *protocorm* melalui embriogenesis langsung (Hardjo *et al.*, 2016). Perbanyakan *Protocorm* mencakup 3 rangkaian proses, yaitu; inisiasi, proliferasi dan maturasi. Kombinasi antara unsur hara, karbon, dan zat pengatur tumbuh dalam media menjadi faktor penentu tingkat keberhasilan proses perbanyakan. Tingkat multiplikasi yang tinggi pada PLB dapat ditingkatkan lagi dengan mengatur kondisi kultur *in vitro* seperti media dan zat pengatur tumbuh yang digunakan (Fang, *et al*, 2016).

2.9 Asam Amino

Asam amino adalah protein yang sudah dipecah melalui proses metabolisme menjadi molekul-molekul kecil sebagai bahan dasar untuk proses biosintesis. Tanaman membutuhkan asam amino untuk meningkatkan hasil dan kualitas secara keseluruhan (Syukur, 2021). Penambahan komponen pemicu pertumbuhan seperti asam amino pada

media kultur *in vitro* menunjukkan hasil yang signifikan pada banyak spesies. Media kultur umumnya terdiri dari unsur-unsur seperti makronutrien, mikronutrien, zat pengatur tumbuh, dan asam amino (Fitriyani *et al*, 2015).

Asam amino merupakan salah satu faktor penunjang keberhasilan kultur sebagai salah satu sumber nitrogen yang berperan dalam regenerasi tunas, induksi pembentukan kalus, embriogenesis dan androgenesis eksplan (Winarto, 2011). Selain itu, asam amino memiliki fungsi sebagai penyusun protein untuk mengkoordinasi aktivitas organisme, merespon sel terhadap rangsangan, dan mampu mempercepat reaksi-reaksi kimiawi secara selektif (Fitriyani *et al*, 2015). Di dalam media kultur *in vitro*, asam amino merupakan sumber nitrogen organik yang lebih cepat diambil oleh eksplan daripada nitrogen yang terdapat di media untuk mendorong pertumbuhan sel dan regenerasi tanaman untuk melakukan perbanyakan (multiplikasi) (Sucandra, 2015). Asam amino akan memulai dan mempercepat masuknya amonia dan nitrit ke dalam metabolisme nitrogen organik (Greenwell & Ruter, 2018). Ketersediaan nitrogen yang optimal dapat meningkatkan pertumbuhan, meningkatkan sintesis protein, meningkatkan rasio pucuk akar serta berperan dalam pembentukan klorofil. Ketersediaan klorofil yang cukup akan meningkatkan proses fotosintesis sehingga karbohidrat bertambah dan mempercepat pertumbuhan tanaman (Menendez *et al*, 2002).

Asam amino yang ditambahkan pada media tumbuh kultur *in vitro* membuat tanaman tidak sepenuhnya bersifat autotrof, namun juga heterotrof dengan

memanfaatkan secara langsung asam amino daripada nitrogen anorganik (Sitorus *et al*, 2011). Dengan asupan asam amino dari luar, tanaman dapat menghemat energi sehingga bisa digunakan untuk metabolisme lainnya. Berdasarkan kemampuan tubuh mensintesis, asam amino dibagi menjadi asam amino esensial, dan asam amino non esensial. Asam amino esensial adalah asam amino yang tidak dapat disintesis oleh tubuh sehingga harus diperoleh tambahan dari luar. Sedangkan asam amino non esensial adalah asam amino yang dapat disintesis oleh tubuh namun dalam jumlah terbatas sehingga dibutuhkan penambahan dari luar untuk mempercepat metabolisme. Asam amino yang termasuk kedalam asam amino esensial adalah histidin, isoleusin, Leusin, metionin, fenilalanin, treonin, triptofan, dan valin. Sedangkan asam amino yang termasuk kedalam asam amino non esensial adalah alanin, arginin, asparagin, asam aspartate, sistein, asam glutamic, glutamin, glisin, prolin, serin, dan tirosin (Darmayanti *et al.*, 2017). Asam amino yang tergolong dalam keluarga glutamin (glutamate) yaitu glutamin, glutamat, prolin, arginine memiliki fungsi memulai dan mempercepat ammonia dan nitrit masuk ke dalam metabolisme nitrogen organik pada tanaman. (Shahsavari, 2011).

2.10 Penggunaan Glutamin pada Kultur *In Vitro*

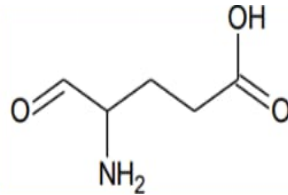
Glutamin merupakan salah satu jenis asam amino yang paling banyak digunakan dalam kultur *in vitro* untuk berbagai tujuan, baik untuk menginduksi pembentukan maupun pertumbuhan kalus embriogenik, induksi pembentukan dan poliferasi tunas (Lizawati, 2012). Glutamin merupakan salah satu asam amino non esensial yang dapat

dibentuk dalam tubuh tumbuhan tetapi dalam jumlah terbatas, sehingga diperlukan tambahan dari luar tubuh tumbuhan (Rasullah *et al.*, 2013). Kebutuhan sel untuk tumbuh pada kultur jaringan lebih mengandalkan glutamin daripada asam amino yang lainnya. Glutamin memiliki peran penting dalam dediferensiasi sel, proliferasi, menjaga potensi embriogenik eksplan, dan sangat diperlukan untuk biosintesis asam amino, protein yang penting dalam pertumbuhan dan perkembangan sel tanaman (Winarto, 2011). Pernyataan tersebut sesuai dengan penelitian Harjdo (2013) bahwa dengan penambahan 100 mg/l glutamin dapat menghasilkan pertumbuhan tunas adventif tebu (*Saccharum officinarum*) yang meningkat dengan hasil yang baik dibandingkan dengan perlakuan tanpa penambahan glutamin.

Glutamin memainkan peran penting pada asimilasi nitrogen sebagai intermediet dalam transfer ammonia hingga asam amino (Sucandra, 2015). Sebagian besar tanaman menyerap nitrogen dalam bentuk ion nitrat atau ammonia. Molekul nitrat tersebut kemudian secara enzimatis dikonveksi menjadi ammonia. Kemudian berasimilasi dengan tanaman untuk sintesis asam amino (Paschalidis *et al.*, 2019). Glutamin merupakan sumber nitrogen yang baik untuk meningkatkan pertumbuhan tunas planlet yang ditumbuhkan secara *in vitro* (El-Shayeb *et al.* 2021). Pernyataan tersebut sesuai dengan penelitian Masyaroh dan Netty (2018), memberikan hasil yang optimal terhadap pertumbuhan planlet kentang (*Solanum tuberosum* L.) dengan pemberian glutamin 100 ppm menunjukkan keberhasilan tinggi planlet mencapai 11,10 cm. Hasil yang terbaik dibandingkan perlakuan lain tanpa pemberian glutamin. Nitrogen yang telah diserap kemudian digunakan untuk biosintesis komponen organik bernitrogen

seperti klorofil dan nukleotida. Penambahan glutamin pada media kultur menyebabkan eksplan tidak perlu melakukan sintesis glutamin dari NH_4^+ yang tersedia pada media karena salah satu sifat sel adalah lebih utama menggunakan persediaan nutrisi yang siap pakai untuk proses metabolismenya sehingga sel eksplan akan cepat terpacu untuk melakukan pembelahan sel.

Penambahan glutamin pada media kultur *in vitro* anggrek dilakukan sebagai upaya untuk mempercepat proses induksi dan poliferasi tunas pada saat tahap subkultur. Daya regenerasi yang tinggi pada pertunasan sangat diperlukan karena semakin cepat tunas yang dihasilkan dan semakin banyak jumlah kelipatan tunas (multiplikasi) yang dihasilkan dari setiap periode subkultur anggrek, maka dapat dikatakan semakin tinggi tingkat efisiensi yang dicapai. Tunas-tunas yang dihasilkan dari multiplikasi nantinya akan melalui tahap pengakaran sehingga diperoleh planlet yang lengkap dan siap masuk tahap aklimatisasi. Pemberian glutamin dengan konsentrasi tinggi dapat menghambat pertumbuhan tanaman karena kandungan N yang tinggi (Maysyaroh dan Netty, 2018). Sesuai dengan penelitian Rasullah *et al.*, (2013) bahwa jumlah konsentrasi glutamin yang lebih sedikit dapat menghasilkan jumlah tunas dan panjang tunas yang optimal. Namun, setiap tumbuhan yang ditumbuhkan secara *in vitro* memiliki kebutuhan nutrisi yang berbeda, termasuk kadar penambahan glutamin pada media.



Gambar 2.10 Struktur Molekul Glutamin (Sumber: Ferrier, 2014)

Beberapa hasil penelitian terdahulu dilaporkan mampu meningkatkan laju multiplikasi antara lain penelitian oleh Lavanya *et al*, (2012) menunjukkan bahwa dengan pemberian asam amino glutamin 50 mg/l pada tanaman *Hildegardia populifolia* (Roxb.) menunjukkan rata-rata jumlah aksilar dan apikal terbanyak daripada perlakuan lain. Selanjutnya penelitian Sinha, P and Miskat A.A.J (2012) menggunakan asam amino glutamin untuk mengamati perbanyakan tunas *Rhynchosytilis retusa* (Lin.) dengan pemberian 150 mg/l asam amino glutamin menunjukkan hasil yang nyata terhadap pembentukan tunas baru dari eksplan tunas yang lama dengan rata-rata jumlah tunas terbanyak yaitu 68,8 tunas dan menunjukkan hasil panjang tunas tertinggi dengan rata-rata 2,6 cm selama 8 minggu setelah tanam. Selain itu, penggunaan asam amino glutamin dengan konsentrasi 200 mg/l mampu menghasilkan rata-rata tunas tertinggi 70,7 mm dibandingkan dengan perlakuan lain (Sinha *et al*, 2009). Konsentrasi di atas 200 mg/l tidak mempengaruhi frekuensi multiplikasi tunas dan mengakibatkan penurunan jumlah regenerasi tunas eksplan. Hal ini sesuai dengan pendapat Maysyaroh dan Netty (2018) bahwa pemberian glutamin dengan konsentrasi tinggi dapat menghambat pertumbuhan tanaman karena kandungan N yang tinggi. Jumlah konsentrasi glutamin yang lebih sedikit dapat menghasilkan

jumlah tunas dan panjang tunas yang optimal (Rasullah *et al*, 2013). Namun, setiap tumbuhan yang ditumbuhkan secara *in vitro* memiliki kebutuhan nutrisi yang berbeda, termasuk jenis dan kadar penambahan asam amino pada media

2.11 Kombinasi TDZ dan asam amino glutamin

Thidiazuron berpotensi memacu pembentukan tunas adventiv pada beberapa jenis tumbuhan karena dapat menginduksi proses pembelahan sel secara cepat pada kumpulan sel yang bersifat meristematis sehingga membentuk promordia tunas (Lestari *et al.*, 2013). Pembelahan sel termasuk dalam reaksi biokimia yang dikatalisis oleh enzim, sehingga dengan ditambahkan asam amino dalam media kultur dapat mempercepat proses pembelahan dan perkembangan sel (George *et al.*, 2008). Asam amino glutamin dapat menjadi sumber nitrogen organik di dalam media kultur *in vitro* (Sucandra, 2015).

Asam amino merupakan bagian penyusun protein yang mampu mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis kultur *in vitro*. Protein memiliki peran penting bagi fungsi dan struktur sel makhluk hidup seperti halnya sel pada tumbuhan. Peran protein bagi fungsi sel berkaitan dengan penyusunan enzim, sedangkan peran protein bagi struktur sel berkaitan dengan proses sintesis pada sel tumbuhan (Garvita dan Handini, 2011). Asam amino glutamin dapat menjadi sumber nitrogen organik yang berperan penting dalam sintesis protein pada sel-sel tanaman. Menurut Kosmiatin *et al* (2014), ketersediaan sumber nitrogen organik pada media kultur *in vitro* mampu meningkatkan akumulasi asam amino sebagai penyusun protein. Menurut El-Shayeb *et al* (2021),

glutamin merupakan sumber nitrogen yang baik untuk peetumbuhan tunas planlet yang ditumbuhkan secara *in vitro*.

Beberapa penelitian menunjukkan keberhasilan kombinasi TDZ dan asam amino glutamin. Penelitian Jane Ho *et al* (2021), memberikan hasil media penambahan TDZ 0,5 mg/l yang dikombinasikan dengan 500 mg/l glutamin dapat mendukung poliferasi tunas *Acacia confuse* tertinggi dengan rata-rata 23,7 tunas. Kemudian malabadi (2004) menerangkan media WV yang dilengkapi dengan TDZ 11,35 μ M dan glutamin 0,5 g/l menghasilkan jumlah tunas anggrek *Vanda coerule* tertinggi dengan rata-rata 8,9 tunas. Selanjutnya penelitian Mulgund *et al* (2011), kombinasi TDZ 11,35 μ M dan glutamin 0,5 g/l menghasilkan jumlah tunas per PLB

anggrek *Xenikophyton smeeanum* (Reichb.f) tertinggi dengan rata-rata 11,0 tunas.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dua faktor yaitu konsentrasi TDZ dan konsentrasi glutamin. Terdapat 144 unit percobaan dengan 36 perlakuan dan 4 ulangan. Setiap unit perlakuan terdapat 3 eksplan, sehingga terdapat 432 eksplan. Tabel kombinasi perlakuan dapat dilihat di tabel 3.1

Tabel 3.1 Rancangan Unit Percobaan

Konsentrasi TDZ	Konsentrasi Asam Amino Glutamin					
	0 mg/l (G0)	50 mg/l (G1)	100 mg/l (G2)	150 mg/l (G3)	200 mg/l (G4)	250 mg/l (G5)
0 mg/l (T0)	T0G0	T0G1	T0G2	T0G3	T0G4	T0G5
0,25 mg/l (T1)	T1G0	T1G1	T1G2	T1G3	T1G4	T1G5
0,5 mg/l (T2)	T2G0	T2G1	T2G3	T2G3	T2G4	T2G5
0,75 mg/l (T3)	T3G0	T3G1	T3G2	T3G3	T3G4	T3G4
1 mg/l (T4)	T4G0	T4G1	T4G2	T4G3	T4G4	T4G5
1,25 mg/l (T5)	T5G0	T5G1	T5G2	T5G3	T5G4	T5G5

3.2 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari tiga variabel yaitu:

1. Variabel bebas pada penelitian ini terdiri dari konsentrasi TDZ dan konsentrasi glutamin

2. Variabel terikat pada penelitian ini terdiri dari hari muncul tunas (HST), jumlah tunas, tinggi tunas, dan warna tunas
3. Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah jenis anggrek, media VW (*Vacin and Went*), suhu inkubasi, pH, dan waktu pengamatan.

3.3 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari 2022 sampai April 2022. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan, Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.4 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi pada penelitian ini adalah tunas *Protocorm Like Body* (PLB) *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) berumur 3 bulan setelah penyemaian biji. Sampel penelitian ini merupakan 324 tunas *in vitro* *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) yang dipilih secara selektif yang berasal dari botol penyemaian biji.

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu timbangan analitik, gelas beaker, gelas ukur, botol kultur, erlenmyer, spatula, pinset, *hot plate* dan *magnetic stirrer*, cawan petri, skapel, enkas atau LAF, mikro pipet 1000 μ L, sprayer, autoklaf, bunsen,

pH meter, kulkas, rak pendingin media, rak inkubasi, korek api, penggaris, spidol permanen, buku catatan, dan alat dokumentasi.

3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu tunas in vitro *Protocorm Like Body* (PLB) Anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) berumur tiga bulan fase empat (tunas), media *Vacin and Went* (VW), sitokinin TDZ, asam amino glutamin, gula, agar-agar, kapas, aquades, tissue, plastik 250 gr, spiritus, kertas label, karet, dan alumunium foil. Untuk sterilisasi menggunakan alkohol 96%, Formalin 10%.

3.6 Prosedur Kerja

3.6.1 Sterilisasi Alat

Langkah kerja pada sterilisasi alat dilakukan secara dua tahap. Tahap pertama yaitu scalpel, pinset, spatula, batang pengaduk, gelas beaker, gelas ukur, botol kultur, botol aquades steril dan erlenmeyer dicuci dengan detergen cair sampai bersih kemudian dibilas dengan air mengalir. Alat-alat ini kemudian dioven pada suhu 121°C selama 3 jam, kecuali gelas beaker dan erlenmeyer. Tahap kedua pada sterilisasi alat ini yaitu scalpel, pinset, spatula dan batang pengaduk dibungkus dengan alumunium foil, sedangkan cawan petri dibungkus dengan kertas. Alat yang telah dibungkus kemudian dimasukkan kedalam plastik tahan panas dan disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Seluruh alat yang akan

digunakan dalam LAF disemprot terlebih dahulu dengan alkohol 96% dan dibakar dengan api bunsen.

3.6.2 Sterilisasi Ruangan

Ruang inisiasi yang digunakan adalah *laminar air flow* (LAF). Sebelum LAF digunakan, perlu dipersiapkan alat-alat yang akan digunakan untuk inisiasi seperti pinset, bunsen, korek api, jas lab, masker, dan cawan petri. Seluruh alat tersebut dimasukkan ke dalam ruang LAF. Ruang LAF disemprot menggunakan alkohol 96% dan dibersihkan menggunakan tisu. Kemudian pintu LAF ditutup dan dinyalakan sinar UV selama 60 menit.

3.6.3 Pembuatan Larutan Stok

Larutan stok dibuat untuk memudahkan dalam pembuatan media. Langkah pertama yang dilakukan dalam pembuatan larutan stok adalah ditimbang glutamin 10 mg dan dimasukkan ke dalam gelas beaker, kemudian ditambahkan 100 ml aquades dan dihomogenkan dengan *stirrer* dan *hot plate*. Selanjutnya, dipindahkan ke dalam botol 250 ml yang ditutup dengan aluminium foil dan plastik 250 mg yang diikat menggunakan karet. Botol diberi kertas label dan disimpan pada suhu ruang. Pembuatan larutan stok TDZ dapat dilakukan dengan cara yang sama seperti pembuatan larutan stok glutamin. Pengambilan larutan stok dilakukan dengan menggunakan rumus pengenceran yaitu $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$. Perhitungan larutan stok sebagai berikut:

Pembuatan larutan stok glutamin dalam 48 ml media dengan konsentrasi 50 mg/l yang dibutuhkan yaitu:

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 50 \text{ mg/l} \times 48$$

$$V_1 = \frac{2400}{1000}$$

$$= 0,24 \text{ ml}$$

$$= 120 \mu\text{l}$$

Pembuatan larutan stok TDZ dalam 48 ml media dengan konsentrasi 0,25 g/l yang dibutuhkan yaitu:

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$100 \text{ ppm} \times V_1 = 0,25 \times 48$$

$$V_1 = \frac{12}{100}$$

$$= 0,12 \text{ ml}$$

$$= 120 \mu\text{l}$$

3.6.4 Pembuatan Media VW0

Pembuatan media VW0 tanpa pemberian glutamin dilakukan dengan menimbang media VW (*Vacint Went*) 1,67 gr, 20 gr gula pasir, 10 gr agar-agar menggunakan timbangan analitik. Kemudian dimasukkan media VW (*Vacint Went*) dan 1,67 gr, 20 gr gula pasir kedalam gelas beaker ukuran 1 liter dengan ditambahkan aquades 1 liter. Kemudian larutan dihomogenkan menggunakan *hot plate stirrer*. Setelah bahan tercampur rata, ditambahkan 10 gr agar-agar kedalam gelas beaker yang

telah berisi beberapa komponen dan diukur pH menggunakan pH meter. Media diukur dengan indikator hingga mencapai 5,8. Apabila pH kurang dari 5,8 maka diberi tambahan NaOH 0,1 N dan apabila pH di atas 5,8 maka diberi tambahan HCL 0,1 N. Setelah pH sesuai, kemudian dipanaskan menggunakan *hote plate* hingga homogen dan mendidih. Setelah mendidih, media dituangkan ke dalam botol kultur steril 100 ml. Tiap botol bervolume 12 ml. Botol ditutup rapat menggunakan plastik 250 gr dengan karet. Setelah itu, botol media diberi tanda sesuai perlakuan kemudian siap untuk disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Media yang sudah steril dan dingin diberi label sesuai perlakuan. Media dibiarkan 5 hari sebelum penanaman untuk memastikan tidak terjadi kontaminasi (Zulkarnain 2009).

3.6.5 Pembuatan Media VW + TDZ + Asam amino Glutamin

Media yang digunakan adalah media VW dengan konsentrasi TDZ 0,25 mg/l, 0,5 mg/l, 0,75 mg/l, 1 mg/l, dan 1,25 mg/l dan konsentrasi glutamin 50 mg/l, 100 mg/l, 150 mg/l, 200 mg/l, dan 250 mg/l. Pembuatan media dilakukan dengan menimbang media VW (*Vacint Went*) 1,67 gr, 20 gr gula pasir, 10 gr agar-agar menggunakan timbangan analitik. Kemudian dimasukkan media VW (*Vacint Went*) dan 1,67 gr, 20 gr gula pasir kedalam gelas beaker ukuran 1 liter dengan ditambahkan aquades 1 liter. Kemudian dihomogenkan menggunakan *hote plate stirrer*. Setelah bahan tercampur rata, ditambahkan 10 gr agar-agar, TDZ dan glutamin sesuai konsentrasi yang telah ditentukan kedalam gelas beaker yang telah berisi beberapa komponen kemudian

diukur pH menggunakan pH meter. Media diukur dengan indikator hingga mencapai 5,8. Apabila pH kurang dari 5,8 maka diberi tambahan NaOH 0,1 N dan apabila pH di atas 5,8 maka diberi tambahan HCL 0,1 N. Menurut Purnomo (2016), tanaman anggrek membutuhkan media dengan pH 5,8 – 5,9 untuk hasil pertumbuhan yang baik. Setelah pH sesuai, kemudian dipanaskan menggunakan *hote plate* hingga homogen dan mendidih. Setelah mendidih, media dituangkan ke dalam botol kultur steril 100 ml. Tiap botol bervolume 12 ml. Botol ditutup rapat menggunakan plastik 250 gr dengan karet. Setelah itu, botol media diberi tanda sesuai perlakuan kemudian siap untuk disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Media yang sudah steril dan dingin diberi label sesuai perlakuan.

3.6.6 Multiplikasi Tunas Anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f)

Subkultur dilakukan di dalam *Laminar Air Flow Cabinet* (LAF) yang telah disterilkan dengan penyinaran lampu UV serta disemprot alkohol 96% untuk menghindari kontaminasi. Tahap yang dilakukan sebelum subkultur yaitu menyiapkan alat dan bahan yang akan digunakan. Alat-alat seperti pinset scalpel dimasukkan ke dalam botol yang berisi alkohol 96%, kemudian dibakar di atas bunsen sebelum digunakan. Kemudian diambil tunas *Protocorm Like Body* (PLB) Anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) di dalam botol kultur menggunakan scalpel lalu dipotong dengan ukuran yang sama kurang lebih 1 cm menggunakan pisau scalpel. Setelah tunas dipotong, dilakukan proses penanaman eksplan pada botol sesuai perlakuan. Setiap botol berisi tiga tunas (eksplan). Selanjutnya botol kultur yang telah

diisi tunas (eksplan) ditutup dengan plastik 250 gr dan diikat menggunakan karet dan diberi label sesuai perlakuan. Selanjutnya diinkubasi diletakkan di atas rak kultur dengan suhu 21°C selama 60 hari (8 minggu) dan setiap 3 hari sekali dilakukan penyemprotan alkohol 70% pada botol kultur.



Gambar 3.1 Eksplan Tunas PLB Anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f)

3.6.7 Tahap Pengamatan

Pengamatan dilakukan melalui dua tahapan yaitu pengamatan harian dan pengamatan akhir, dengan parameter yaitu:

1. Pengamatan Kuantitatif

a. Hari Muncul Tunas

Hari muncul tunas diamati setelah 3 hari sejak hari pertama penanama, sampai hari terakhir inkubasi dengan batasan minimal ukuran tunas 0,5 cm.

b. Jumlah Tunas

Jumlah tunas diamati pada hari ke 60 HST pada akhir pengamatan dengan cara menghitung jumlah tunas yang muncul pada eksplan pada setiap perlakuan. Batasan minimal yang dianggap tunas adalah 0,5 cm.

c. Tinggi Tunas

Tinggi tunas diamati pada hari ke 60 HST pada akhir pengamatan dengan cara mengukur tinggi tunas yang muncul pada eksplan menggunakan penggaris. Tinggi tunas yang tumbuh dihitung dari ukuran tunas minimal 0,5 cm.

2. Pengamatan Kualitatif

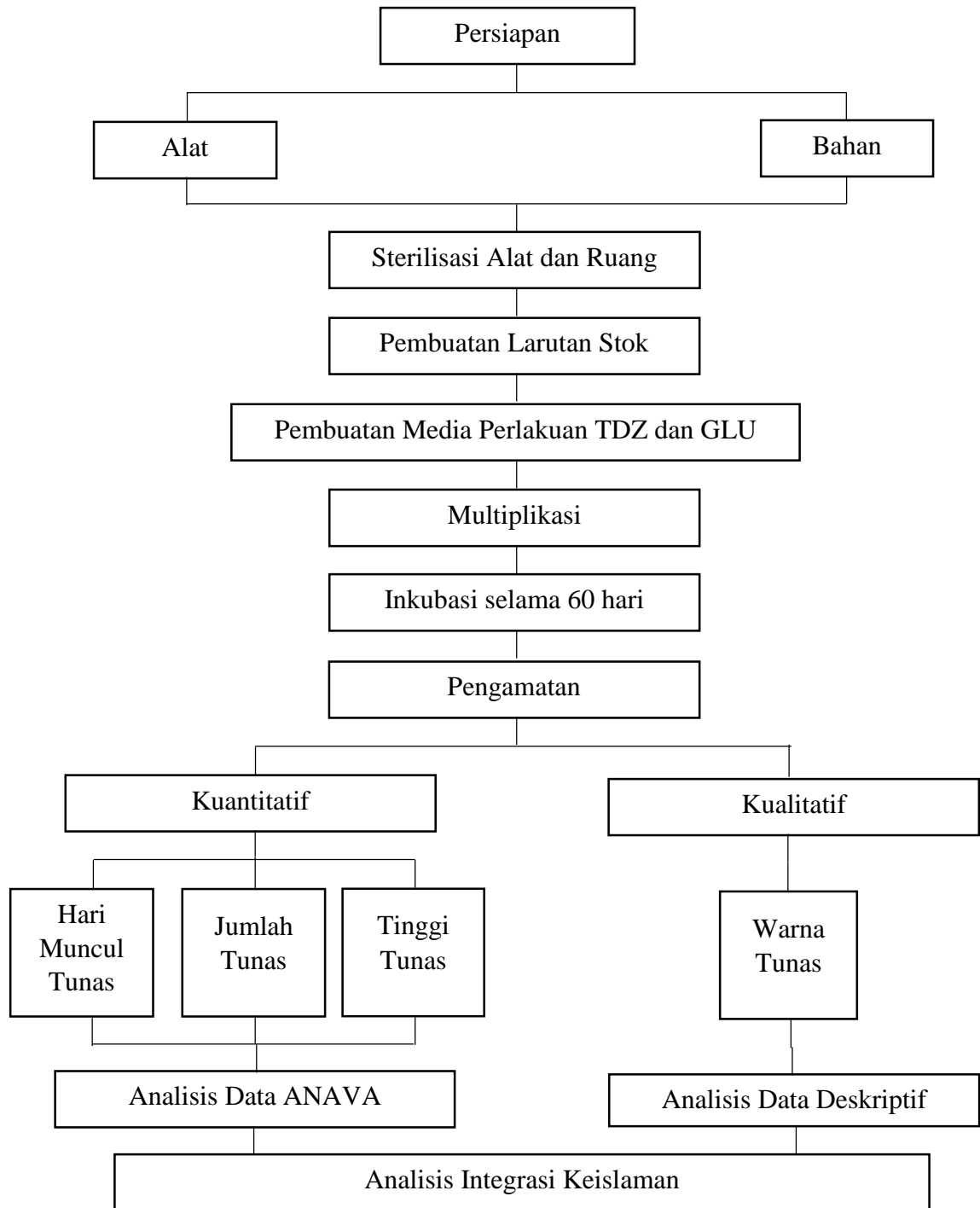
a. Warna Tunas

Pengamatan warna tunas dilakukan dengan mengamati perubahan warna pada tunas *Protocorm Like Body* (PLB) anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) menggunakan aplikasi *color grab*.

3.7 Analisis Data

Data hasil pengamatan berupa data kuantitatif dan kualitatif. Data kuantitatif diantaranya hari muncul tunas (HST), jumlah tunas, dan tinggi tunas. Sedangkan data kualitatif dengan mengamati warna tunas. Data kualitatif dianalisis menggunakan *Analysis of Variant* (ANOVA). Apabila hasil dari sidik ragam pada uji ANOVA terdapat pengaruh nyata maka dilanjutkan dengan analisis *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan taraf 5% untuk mengetahui perbedaan nyata antar perlakuan yang diberikan (Widyanto, 2013). Data hasil penelitian kemudian dianalisis dan diintegrasikan dengan ayat-ayat Al-Quran beserta tafsirnya atau Hadist, sehingga diperoleh hasil penelitian yang sesuai dengan nilai-nilai Islam.

3.8 Alur Penelitian



Gambar 3.2 Alur Penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Penambahan Thidiazuron Terhadap Multiplikasi Tunas *Protocorm Like Body* (PLB) Anggrek *Dendrobium Stratiotes* (Rchb.f)

Multiplikasi tunas merupakan tahapan yang sangat penting dalam perbanyakan anggrek secara kultur jaringan, salah satu cara untuk memacu pertumbuhan tunas *in vitro* anggrek yaitu dengan penambahan hormon eksogen media kultur. Hal ini untuk mengetahui konsentrasi yang efektif dan optimal terhadap multiplikasi tunas anggrek (*Dendrobium stratiotes* Rchb.f) parameter yang diamati pada penelitian ini yaitu hari muncul tunas (HST), jumlah tunas, tinggi tunas dan warna tunas.

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa TDZ berpengaruh nyata terhadap multiplikasi tunas *Protocorm Like Bodies* (PLB) anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) Data yang diperoleh dari hasil penelitian diuji normalitas dan homegenitas terlebih dahulu sebelum diuji *one way* ANOVA. Uji normalitas menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* dan dilanjutkan uji homogenitas (*Levene*), jika data menunjukkan normal dan homogen bisa dilanjutkan dengan uji *one way* ANOVA. Sedangkan hasil uji normalitas pada hari ke-60 setelah tanam menunjukkan nilai signifikansi hari muncul tunas, jumlah tunas, dan tinggi tunas $>0,05$ yang berarti data berdistribusi normal yaitu dengan nilai signifikansi 0,67 pada semua parameter. Data yang telah diketahui berdistribusi normal dilanjutkan dengan uji homogenitas. Hasil dari uji homogenitas menunjukkan hasil yang homogen pada semua parameter. Pada parameter muncul tunas memiliki nilai signifikansi $>0,05$ yaitu dengan nilai 0,70

kemudian parameter jumlah tunas dengan nilai signifikansi $>0,05$ yaitu dengan nilai 0,82 dan pada parameter tinggi tunas menunjukkan nilai signifikansi $<0,05$ yaitu 0,58. Hasil ANAVA pengaruh penambahan TDZ ditunjukkan pada (tabel 4.1.)

Tabel 4.1 Hasil ANAVA pengaruh penambahan TDZ terhadap multiplikasi tunas *Protocorm Like Body (PLB)* Anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f)

Variabel	Nilai Signifikansi
Hari Muncul Tunas	0,00*
Jumlah Tunas	0,00*
Tinggi Tunas	0,30

Keterangan: (*) pemberian TDZ berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan

Berdasarkan hasil ANAVA di atas menunjukkan TDZ berpengaruh terhadap pertumbuhan multiplikasi *Protocorm Like Body (PLB)* Anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) pada hari muncul tunas dan jumlah tunas. Akan tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap tinggi tunas. Selanjutnya dilakukan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) taraf signifikan 5% untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan akibat pengaruh penambahan TDZ terhadap waktu muncul tunas dan jumlah tunas. Hasil uji DMRT 5% disajikan pada tabel 4.2.

Table 4.2 Hasil DMRT pengaruh penambahan TDZ terhadap multiplikasi tunas *Protocorm Like Body (PLB)* Anggrek *Dendrobium Stratiotes (Rchb.f)* dengan Taraf 5%

Perlakuan	Variabel Pengamatan	
	Konsentrasi TDZ	Hari Muncul Tunas (HST)
(0 mg/l)	14,50c	7,25bc
(0,25 mg/l)	13,25b	8,25d
(0,5 mg/l)	12,75ab	8,50d
(0,75 mg/l)	12,25a	7,75cd
(1 mg/l)	12,50ab	6,50b
(1,25 mg/l)	12,50ab	5,00a

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan pemberian glutamin tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%

Hasil uji DMRT 5% terhadap parameter hari muncul tunas menunjukkan TDZ memberikan pengaruh nyata. Terbentuknya tunas menunjukkan keberhasilan regenerasi eksplan yang diinokulasi pada medium kultur *in vitro*. Berdasarkan data yang diolah, pertumbuhan multiplikasi tunas paling cepat yaitu dengan penambahan 0,75 mg/l TDZ jika dibandingkan dengan perlakuan lain dan tanpa penambahan TDZ dengan rata-rata 12,25 HST. Hasil yang tidak berbeda nyata adalah dengan penambahan TDZ 0,5 mg/l dengan rata-rata 12,75 HST ditunjukkan dengan notasi ab. Penambahan TDZ dengan konsentrasi 0,25 mg/l juga tidak berbeda nyata dengan penambahan konsentrasi TDZ 0,5 mg/l dilihat dari notasi b dengan rata-rata 13,25. Dapat disimpulkan bahwa hasil yang paling efektif untuk hari muncul tunas pada perlakuan penambahan TDZ adalah 0,25 mg/l karena dengan konsentrasi yang rendah menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata dengan penambahan konsentrasi TDZ

0,75 mg/l dan 0,5 mg/l. Sedangkan perlakuan tanpa penambahan TDZ memberikan hasil pertumbuhan tunas paling lambat dengan rata-rata 14,50 HST. Hasil penelitian tersebut di atas diketahui bahwa perlakuan dengan pemberian TDZ dan tanpa pemberian TDZ berbeda nyata dengan semua perlakuan dengan pemberian TDZ dengan notasi huruf c dibuktikan dengan data yang tersaji pada tabel 4.2.

Hasil penelitian di atas sesuai dengan penelitian Rineksane *et al* (2018), penambahan TDZ 0,75 mg/l cenderung memunculkan tunas anggrek *Vanda tricolor* lebih cepat (1,46 minggu) jika dibandingkan dengan perlakuan lain dan tanpa penambahan TDZ. Kemudian penelitian Sharma *et al* (2014) dengan penambahan TDZ 0,75 mg/l mampu memunculkan tunas tanaman Gentian (*Gentiana kurro*) pertama pada 4 MST. Pengaruh yang sama dari TDZ dilaporkan oleh Nurjaman *et al* (2015), dimana dengan penambahan 1 mg/l TDZ tunas adventif Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*) mulai terbentuk pada 20-30 HST.

Pada penelitian yang telah dilakukan, tunas sudah mulai muncul pada 12-14 HST pada semua perlakuan. Munculnya tunas dicirikan dengan terbentuknya mata tunas dengan ujung lancip dan berwarna hijau pada PLB. Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa penambahan 0,75 mg/l TDZ merupakan konsentrasi yang optimal untuk kecepatan hari muncul tunas. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Rineksane *et al* (2018) artinya konsentrasi 0,75 umum memberikan pengaruh yg sama pada tanaman anggrek. Namun pada beberapa penelitian lain memberikan pengaruh dengan waktu yang berbeda, hal ini di karenakan jenis tanaman yang berbeda. Kecepatan eksplan bertunas dipengaruhi oleh genotip

tanaman yang digunakan, kombinasi media dan ZPT yang diberikan. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Wattimena *et al.*, (1992), bahwa kecepatan sel untuk membelah diri dapat dipengaruhi oleh adanya kombinasi zat pengatur tumbuh tertentu dalam konsentrasi yang tertentu.

Berdasarkan hasil data yang diperoleh, penambahan TDZ pada media kultur terbukti berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas *Protocorm Like Body* (PLB) anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f). Diketahui konsentrasi TDZ 0,5 mg/l memberikan hasil yang optimal dibandingkan dengan perlakuan lain dengan rata-rata 8,50 HST. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Rineksane *et al* (2018), pada pertumbuhan *Protocorm Like Body* (PLB) anggrek *Vanda tricolor* dengan penambahan konsentrasi 0,5 mg/l TDZ menghasilkan jumlah tunas terbanyak dengan rata-rata 11,80. Kemudian penelitian Karyanti (2017) pada anggrek *Vanda douglas*, menyatakan bahwa pertambahan tunas terbaik dengan rata-rata jumlah tunas 8.00 diperoleh pada perlakuan dengan penambahan TDZ 0,5 mg/l, dibandingkan dengan konsentrasi 1 mg/l dan 1,5 mg/l. Namun, berdasarkan data yang diperoleh pada penelitian ini, konsentrasi 0,25 mg/l TDZ tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 0,5 mg/l TDZ ditunjukkan dengan notasi yang sama yaitu d. konsentrasi TDZ 0,25 mg/l menunjukkan hasil yang efektif dengan rata-rata jumlah tunas 8,25. Hasil tersebut sependapat dengan Swandra dan Netty M,S (2012), pemberian konsentrasi 0,25 TDZ mg/l pada media multiplikasi tunas Andalas (*Morus macroura* Miq. var. *macroura*) memberikan hasil jumlah tunas tertinggi dengan rata-rata 12,67. Pengaruh yang sama di laporkan oleh Annisa *et al* (2021), pada tanaman *Musa acuminata* cv pembentukan

tunas terbanyak ditemukan pada medium dengan penambahan 0,25 mg/l TDZ dengan rata-rata jumlah tunas sebanyak 13,67. Menurut Karyanti (2017), TDZ merupakan sitokinin yang sering digunakan dalam perbanyakan tunas karena memiliki efektivitas yang tinggi untuk menstimulasi pembentukan dan perpanjangan tunas pada konsentrasi rendah. Menurut Taha *et al* (2021), TDZ berfungsi untuk merangsang sel-sel di meristem apikal untuk membelah kemudian berkembang sehingga terjadi diferensiasi tunas.

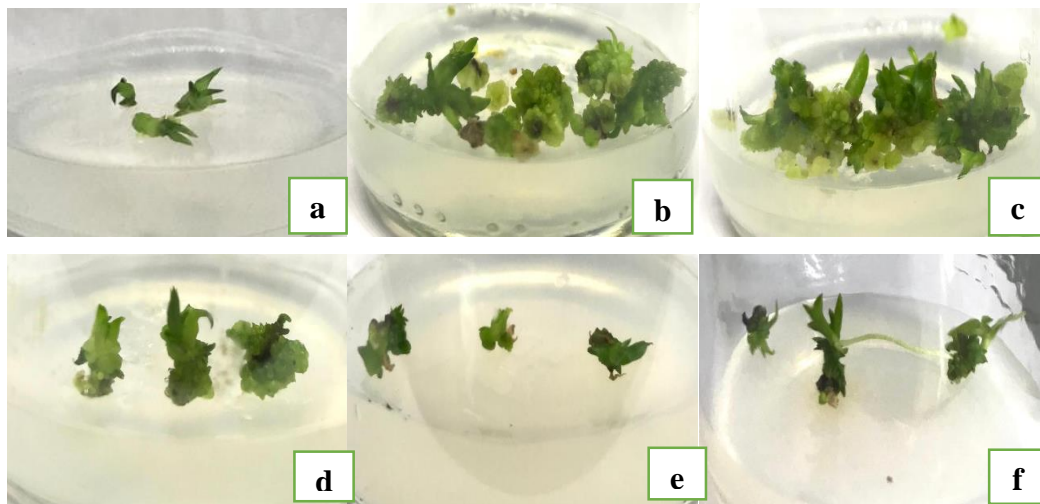
Sedangkan rata-rata jumlah tunas terendah diperoleh dengan perlakuan 1,25 mg/l TDZ dengan rata-rata jumlah tunas 5,0. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Hardjo (2016), hasil proliferasi tunas PLB tertinggi terjadi pada konsentrasi TDZ terendah yaitu 0,5 mg/l. Semakin tinggi konsentrasi TDZ berakibat menurunnya pembelahan sel karena terjadi akumulasi TDZ di jaringan. TDZ yang terakumulasi sangat tinggi dapat menghambat pembelahan sel. Kemudian Swandra (2012) juga menyatakan bahwa pemberian konsentrasi sitokinin yang tinggi dapat menyebabkan jumlah tunas berkurang. Dapat disimpulkan bahwa TDZ dengan konsentrasi 0,5 mg/l dan 0,25 mg/l menunjukkan hasil yang optimal untuk jumlah tunas pada beberapa penelitian yang telah dilakukan pada tanaman anggrek dan sebagian tanaman lain.

Parameter pada multiplikasi tunas berdasarkan hasil uji DMRT 5% pemberian TDZ yang optimal untuk hari muncul tunas adalah konsentrasi 0,75 mg/l dengan rata-rata 12,25 HST dan pemberian TDZ 0,25 mg menunjukkan hasil yang efektif dengan rata-rata 13,25 HST. Hari muncul tunas paling lama adalah perlakuan tanpa

penambahan TDZ. Sedangkan pada parameter jumlah tunas yang optimal adalah dengan pemberian 0,5 mg/l TDZ dengan rata-rata jumlah tunas 8,50. Akan tetapi tidak berbeda nyata dengan pemberian TDZ konsentrasi 0,25 mg/l hal ini ditunjukkan dengan notasi huruf yang sama yaitu a. Menurut Guo *et al.* (2011), peran TDZ pada peningkatan multiplikasi tunas adalah perannya dalam merangsang produksi sitokinin endogen serta mampu menghambat kerja dari sitokinin oksidase yang merupakan suatu enzim yang dapat menghilangkan keaktifan dari sitokinin tipe adenin bebas. Oleh sebab itu, TDZ mampu meningkatkan kerja sitokinin lain, baik sitokinin endogen maupun sitokinin eksogen. Menurut Yunita (2004) juga menjelaskan bahwa TDZ memiliki kemampuan untuk menginduksi kemunculan tunas karena TDZ mampu mendorong terjadinya perubahan sitokinin ribonukleotida menjadi lebih aktif dalam pembelahan sel.

Pada penelitian ini parameter lain yang diamati adalah tinggi tunas tetapi data menunjukkan pemberian TDZ tidak memberikan pengaruh nyata terhadap tinggi tunas. Hal ini diduga aktifitas TDZ sendiri yang mana dengan peningkatan pemberian konsentrasi TDZ akan memperbanyak tunas yang dihasilkan sehingga menekan aktivitas auksin dan hormon endogen lainnya dalam elongasi batang dan pertumbuhan tinggi tanaman terhambat (Swandra, 2012). Penelitian tersebut diperkuat dengan penelitian Lestari (2011), yang mana pertumbuhan tunas tertinggi terdapat pada media tanpa pemberian TDZ. Hal tersebut diduga karena adanya hormon endogen yang menyebabkan pertumbuhan eksplan tumbuh secara normal bahkan cenderung lebih tinggi. Akan tetapi pertumbuhan tunas tidak hanya dipengaruhi oleh hormon sitokinin

dan unsur hara yang tersedia, namun setiap tanaman juga memiliki hormon endogen yang akan mempengaruhi pertumbuhan tunas (Rineksane *et al*, 2018).



Gambar 4.1. Hasil Multiplikasi Tunas PLB Penambahan TDZ a.0 mg/l, b.0.25 mg/l, c.0,5 mg/l, d.0,75 mg/l, e.1 mg/l, f.1,25 mg/l

4.2 Pengaruh Penambahan Asam Amino Glutamin Terhadap Multiplikasi Tunas *Protocorm Like Body* (PLB) Anggrek *Dendrobium Stratiotes* (Rchb.f)

Perlakuan lain yang dilakukan pada penelitian ini adalah dengan penambahan asam amino glutamin. Hal ini dilakukan untuk mengetahui seberapa efektif asam amino glutamin yang bisa diberikan pada suatu perlakuan. Parameter yang diamati pada penelitian ini adalah hari muncul tunas (HST), jumlah tunas, tinggi tunas, dan tinggi tunas. Keempat parameter tersebut dapat diamati diukur secara kuantitatif dan kualitatif yang merupakan indikator keberhasilan multiplikasi tunas secara *in vitro*.

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa asam amino glutamin berpengaruh nyata terhadap multiplikasi tunas *Protocorm Like Body* (PLB) anggrek

Dendrobium stratiotes (Rchb.f) Data yang diperoleh dari hasil penelitian diuji normalitas dan homegenitas terlebih dahulu sebelum diuji *one way* ANOVA. Uji normalitas menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* dan dilanjutkan uji homogenitas (*Levene*), jika data menunjukkan normal dan homogen bisa dilanjutkan dengan uji *one way* ANOVA. Hasil uji normalitas pada hari ke-60 setelah tanam menunjukkan nilai signifikansi hari muncul tunas, jumlah tunas dan tinggi tunas $>0,05$ yang berarti data berdistribusi normal yaitu dengan nilai signifikansi 0,51 pada semua parameter. Data yang telah diketahui berdistribusi normal dilanjutkan dengan uji homogenitas. Hasil dari uji homogenitas menunjukkan hasil yang homogen pada semua parameter. Pada parameter muncul tunas memiliki nilai signifikansi $>0,05$ yaitu dengan nilai 0,32 kemudian parameter jumlah tunas dengan nilai signifikansi $>0,05$ yaitu dengan nilai 0,51 dan pada parameter tinggi tunas menunjukkan nilai signifikansi $<0,05$ yaitu 0,49. Data pengaruh kombinasi TDZ dan asam amino glutamin terhadap multiplikasi tunas *Protocorm Like Body* (PLB) anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) ditunjukkan pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil ANAVA pengaruh penambahan Asam Amino Glutamin terhadap multiplikasi tunas *Protocorm Like Body (PLB)* Anggrek *Dendrobium Stratiotes* (Rchb.f)

Variabel	Nilai Signifikansi
Hari Muncul Tunas	0,00*
Jumlah Tunas	0,00*
Tinggi Tunas	0,16

Keterangan: (*) penambahan asam amino glutamin berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan

Berdasarkan hasil ANAVA di atas menunjukkan glutamin berpengaruh terhadap pertumbuhan multiplikasi *Protocorm Like Body (PLB)* Anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) pada hari muncul tunas dan jumlah tunas. Akan tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap tinggi tunas. Selanjutnya dilakukan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) taraf signifikan 5% untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan akibat pengaruh penambahan asam amino glutamin terhadap waktu muncul tunas dan jumlah tunas. Hasil uji DMRT 5% disajikan pada tabel 4.4.

Table 4.4 Hasil DMRT pengaruh penambahan Asam Amino Glutamin terhadap multiplikasi tunas *Protocorm Like Body (PLB)* Anggrek *Dendrobium Stratiotes (Rchb.f)* pada taraf 5%

Perlakuan	Variabel Pengamatan	
	Hari Muncul Tunas (HST)	Jumlah Tunas
Konsentrasi Glutamin		
(0mg/l)	14,50d	7,25cc
(50 mg/l)	11,25b	8,25d
(100 mg/l)	11,25b	8,50d
(150 mg/l)	10,25a	7,75cd
(200 mg/l)	12,25c	6,50b
(250 mg/l)	13,75d	5,00a

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan pemberian glutamin tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%

Hasil uji DMRT 5% terhadap parameter hari muncul tunas menunjukkan bahwa asam amino glutamin memberikan pengaruh nyata. Berdasarkan data yang diolah, pertumbuhan multiplikasi tunas yang paling cepat yaitu konsentrasi 150 mg/l dengan rata-rata hari muncul tunas 10,25 HST. Tunas yang muncul dapat dilihat secara visual yang dicirikan dengan adanya berwarna hijau menonjol agak meruncing di bagian ujungnya. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Asharo (2013), bahwa penggunaan glutamin dengan konsentrasi 100 ppm pada kultur tunas tebu (*Saccharum officinarum*) terlihat tonjolan tunas pada minggu ke dua. Menurut Asharo (2013), pada minggu ke dua, glutamin telah memainkan perannya sebagai sumber nitrogen organik untuk biosintesis komponen organik bernitrogen sehingga tanaman menggunakan nutrisi yang telah siap pakai sehingga eksplan terpacu untuk lebih cepat melakukan pembelahan sel. Penggunaan asam amino glutamin mempercepat hari

muncul tunas dibuktikan dengan hasil penelitian ini ketika tidak diberikan asam amino glutamin maka hari muncul tunas melambat dengan rata-rata 14,50 HST. Selain itu, penelitian Hardjo (2013) juga menunjukkan bahwa dengan penggunaan glutamin pada *Saccharum* spp. Hybrids dengan konsentrasi 100 mg/l memunculkan banyak calon tunas pada awal minggu ke tiga dibandingkan dengan perlakuan lain. Hal tersebut bisa di simpulkan berdasarkan beberapa hasil penelitian asam amino glutamin 150 mg/l lebih optimal untuk mempercepat hari muncul tunas pada hari ke 10 dibandingkan dengan konsentrasi asam amino glutamin 100 mg/l. Namun, masih belum banyak dilaporkan konsentrasi glutamin yang mempengaruhi waktu muncul tunas pada proses multiplikasi tunas secara *in vitro* dan setiap jenis tanaman yang berbeda memiliki kebutuhan glutamin yang berbeda pula.

Pemberian glutamin dengan konsentrasi 50 mg/l (P1) memberikan hasil yang efektif untuk variabel pengamatan jumlah tunas dengan rata-rata 8,25 tunas (tabel 4.2). Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Lavanya *et al* (2012), menunjukkan bahwa dengan pemberian glutamin 50 mg/l pada tanaman *Hildegardia populifolia* Roxb. Menghasilkan rata-rata jumlah aksilar dan apikal terbanyak daripada perlakuan yang lain. Menurut (Asharo, 2013), Glutamin merupakan salah satu asam amino sebagai sumber nitrogen yang digunakan dalam kultur *in vitro* untuk menginduksi pembentukan maupun pertumbuhan tunas. Sedangkan menurut Hardjo (2013), glutamin dilaporkan dapat dimanfaatkan oleh tanaman secara langsung untuk sintesis senyawa organik dalam pembentukan organ. Hal yang sama dilaporkan oleh Shrivasta (2008), bahwa 50 mg/l glutamin dapat meningkatkan jumlah tunas adventif

tanaman Jarak pagar (*Jatropha curus* L) dengan jumlah tunas terbanyak yaitu dengan rata-rata 10,0 tunas. Berdasarkan beberapa hasil penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa secara umum asam amino glutamin 50 mg/l adalah konsentrasi terbaik dalam meningkatkan jumlah tunas pada sebagian tanaman. Sedangkan pada penelitian ini penambahan glutamin dengan konsentrasi 250 mg/l memberikan hasil rata-rata jumlah tunas terendah yaitu 5,0. Hal tersebut karena semakin tinggi konsentrasi glutamin yang diberikan membuat pertumbuhan tanaman terhambat karena kandungan N yang tinggi (Maysyaroh, 2018). Pernyataan tersebut sejalan dengan penelitian Rasullah *et al.* (2013) yang menunjukkan bahwa jumlah konsentrasi glutamin yang lebih sedikit dapat menghasilkan jumlah tunas yang optimal.

Berdasarkan hasil variabel pengamatan jumlah tunas (table 4.4) menunjukkan bahwa konsentrasi 100 mg/l (P2) tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 50 mg/l (P1) berdasarkan notasi huruf yang sama yaitu d. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Harjdo (2013) bahwa dengan penambahan 50 mg/l dan 100 mg/l glutamin dapat menghasilkan pertumbuhan tunas adventif tebu (*Saccharum officinarum*) yang meningkat dengan hasil yang baik dibandingkan dengan perlakuan tanpa penambahan glutamin. Glutamin memberikan pengaruh signifikan untuk menstimulasi pertumbuhan tunas tanaman *Iris fluorentina* L. Dalam penelitiannya menyebutkan bahwa pertumbuhan dan perkembangan tunas dapat dipacu dengan 100 mg/l glutamin (Tikhomirova, 2020).

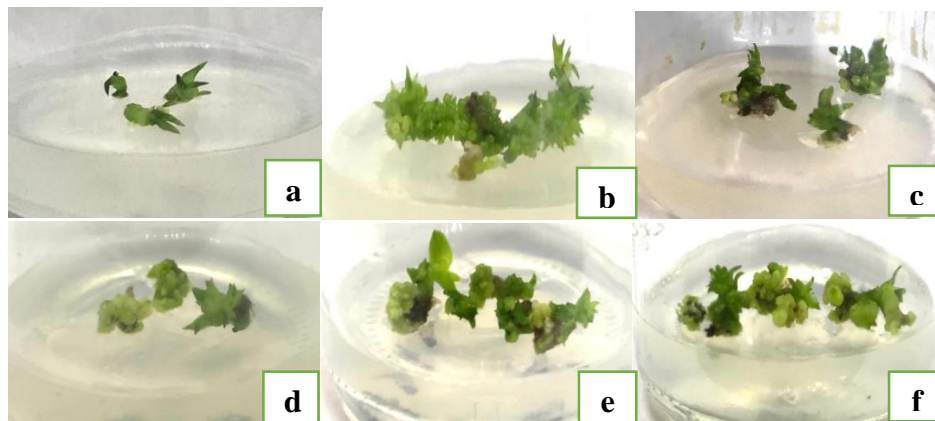
Parameter pada multiplikasi tunas berdasarkan hasil uji DMRT 5% pemberian asam amino glutamin yang optimal untuk hari muncul tunas adalah konsentrasi 150

mg/l dengan rata-rata 10,25 HST dan hari muncul tunas paling lama adalah konsentrasi 0 mg/l dengan rata-rata hari muncul tunas 14,50 HST. Sedangkan pada parameter jumlah tunas yang optimal adalah dengan pemberian asam amino glutamin 100 mg/l dengan rata-rata jumlah tunas 8,50. Akan tetapi tidak berbeda nyata dengan pemberian asam amino glutamin dengan konsentrasi 50 mg/l hal ini ditunjukkan dengan notasi huruf yang sama yaitu d.

Hal ini menunjukkan bahwa asam amino glutamin memberikan pengaruh yang baik terhadap multiplikasi tunas *Protocorm Like Body* (PLB) anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) pada parameter hari muncul tunas dan jumlah tunas. Menurut Azizi *et al* (2017), Komposisi media merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi keberhasilan multiplikasi tunas anggrek secara *in vitro*. Untuk memenuhi kebutuhan pertumbuhan tunas anggrek secara *in vitro*, membutuhkan penambahan komponen asam amino sebagai sumber nitrogen dan penyusun protein (Zulkarnain, 2009). Di dalam media kultur *in vitro*, asam amino merupakan sumber nitrogen organik yang lebih cepat diambil oleh eksplan daripada nitrogen yang terdapat di media untuk mendorong pertumbuhan sel dan regenerasi tanaman untuk melakukan perbanyakan (multiplikasi) (Sucandra, 2015). Penambahan glutamin pada media kultur *in vitro* anggrek dilakukan sebagai upaya untuk mempercepat proses induksi dan proliferasi tunas pada saat tahap subkultur. Asam amino glutamin memiliki fungsi sebagai sumber nitrogen dan penyusun protein. Daya regenerasi yang tinggi pada pertunasan sangat diperlukan karena semakin cepat tunas yang dihasilkan dan semakin banyak jumlah kelipatan tunas (multiplikasi) yang dihasilkan dari setiap periode subkultur anggrek,

maka dapat dikatakan semakin tinggi tingkat efisiensi yang dicapai. Tunas-tunas yang dihasilkan dari multiplikasi nantinya akan melalui tahap pengakaran sehingga diperoleh planlet yang lengkap dan siap masuk tahap aklimatisasi.

Pada penelitian ini, data menunjukkan bahwa asam amino glutamin tidak berpengaruh nyata terhadap parameter tinggi tunas. Menurut Azizi *et al*, (2017), beberapa faktor yang dapat mempengaruhi keberhasilan multiplikasi tunas secara *in vitro* yaitu komposisi media, jenis hormon, jenis eksplan, dan ukuran eksplan. Namun pada penelitian ini diduga waktu pengamatan 42 hari minggu belum cukup untuk hasil panjang tunas yang optimal. Menurut Ramadan (2016), munculnya tunas merupakan awal dari pertumbuhan suatu tanaman. Pada penelitian ini asam amino glutamin hanya menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap hari muncul tunas dan jumlah tunas. Pada penelitian selanjutnya, perlu adanya penambahan waktu pengamatan untuk menghasilkan pertumbuhan tinggi tunas yang optimal.



Gambar 4.2 Hasil multiplikasi tunas PLB pemberian glutamin a.0 mg/l, b.50 mg/l, c.100 mg/l, d.150 mg/l, e.200 mg/l, f.250 mg/l

4.3 Pengaruh Pemberian Kombinasi TDZ dan Asam Amino Glutamin Terhadap Multiplikasi Tunas *Protocorm Like Body* (PLB) Anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchbf.)

Kombinasi media kultur telah banyak dilakukan untuk meningkatkan keberhasilan multiplikasi tunas secara *in vitro*. Selain ZPT penambahan komponen pemicu pertumbuhan pada media tumbuh seperti asam amino telah memberikan pengaruh yang signifikan pada beberapa penelitian. Dilakukan penelitian ini untuk mengetahui kombinasi TDZ dan asam amino glutamin yang efektif dan optimal terhadap multiplikasi tunas *Protocorm Like Body* (PLB) anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchbf.).

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa kombinasi TDZ dan asam amino glutamin berpengaruh nyata terhadap multiplikasi tunas *Protocorm Like Body* (PLB) anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchbf.) Data yang diperoleh dari hasil penelitian diuji normalitas dan homogenitas terlebih dahulu sebelum diuji *one way* ANOVA. Uji normalitas menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* dan dilanjutkan uji homogenitas (*Levene*), jika data menunjukkan normal dan homogen bisa dilanjutkan dengan uji *one way* ANOVA. Hasil uji normalitas pada hari ke-60 setelah tanam menunjukkan nilai signifikansi hari muncul tunas, jumlah tunas dan tinggi tunas $>0,05$ yang berarti data berdistribusi normal pada semua parameter dengan nilai signifikansi 0,10. Data yang telah diketahui berdistribusi normal dilanjutkan dengan uji homogenitas. Hasil dari uji homogenitas menunjukkan homogen pada semua parameter. Pada parameter muncul tunas memiliki nilai signifikansi $>0,05$ yaitu dengan nilai 0,70 kemudian parameter jumlah tunas dengan nilai signifikansi $>0,05$ yaitu dengan nilai 0,12 dan pada

parameter tinggi tunas menunjukkan nilai signifikansi $>0,05$ yaitu 0,30 (lampiran 1.3). Hasil ANAVA pengaruh kombinasi TDZ dan asam amino glutamin ditunjukkan pada tabel 4.5.

Table 4.5 Hasil ANAVA pengaruh penambahan kombinasi TDZ dan asam amino glutamin terhadap multiplikasi tunas *Protocorm Like Body* (PLB) Anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchbf.)

Variabel	Nilai Signifikansi
Hari Muncul Tunas	0,00*
Jumlah Tunas	0,00*
Tinggi Tunas	0,00*

Keterangan: (*) kombinasi TDZ dan asam amino glutamin berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan

Hasil ANAVA di atas menunjukkan penambahan TDZ dan asam amino glutamin berpengaruh terhadap pertumbuhan multiplikasi *Protocorm Like Body* (PLB) Anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchbf.) pada semua parameter pengamatan (tabel 4.5). Selanjutnya dilakukan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) taraf signifikan 5% untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan akibat pengaruh penambahan kombinasi TDZ dan asam amino glutamin terhadap waktu muncul tunas, jumlah tunas dan tinggi tunas. Hasil uji DMRT 5% disajikan pada tabel 4.6.

Tabel 4.6 Hasil DMRT pengaruh penambahan kombinasi TDZ dan asam amino glutamin terhadap multiplikasi tunas *Protocorm Like Body* (PLB) Anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchbf.) dengan taraf 5%

Perlakuan		Hari pertama muncul tunas	Jumlah tunas	Tinggi tunas (cm)
Glutamin	TDZ			
0	0	14,50jk	7,25efg	0,51abc
	0,25	13,25hi	8,25ghi	0,53abcd
	0,5	12,75ghi	8,50hij	0,54abcde
	0,75	12,25fgh	7,75fgh	0,50abc
	1	12,50ghi	6,50de	0,51abc
	1,25	12,75ghi	5,00ab	0,51abc
	50	0	11,25def	8,00fgh
50	0,25	11,75efg	10,50kl	0,53abcd
	0,5	11,25def	12,75n	0,55bcdef
	0,75	12,50ghi	9,75jk	0,52abcd
	1	12,75ghi	8,75hij	0,52abcd
	1,25	13,25hi	9,50ijk	0,50abc
	100	0	11,25def	9,75jk
100	0,25	9,25ab	11,50lm	0,55abcde
	0,5	10,50cd	15,0o	0,56bcdef
	0,75	12,50ghi	9,75jk	0,53abcd
	1	13,25hi	9,50ijk	0,51abcd
	1,25	13,75ij	8,75hij	0,52abcd
150	0	10,25bcd	11,50lm	0,56bcdef
	0,25	8,75a	15,75op	0,57cdef

	0,5	9,75abc	16,75p	0,65g
	0,75	8,75a	12,00mn	0,6133fg
	1	11,00de	9,75jk	0,5075abc
	1,25	13,00hi	8,50hij	0,5175abc
200	0	12,25fgh	10,25k	0,5200abcd
	0,25	12,50ghi	11,50lm	0,5500abcde
	0,5	12,75ghi	12,75n	0,6100efg
	0,75	12,50ghi	9,75jk	0,5450abcde
	1	14,50jk	8,25ghi	0,5375abcd
	1,25	15,25kl	7,00fg	0,5050abc
250	0	13,75ij	4,25a	0,5100abc
	0,25	12,50ghi	4,75ab	0,4875a
	0,5	14,50jk	6,25cde	0,5052ab
	0,75	13,50hij	5,50bcd	0,4975ab
	1	14,50jk	5,25abc	0,5150abcd
	1,25	15,75l	4,25a	0,5200abcd

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan pemberian kombinasi TDZ dan asam amino glutamin tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%

Hasil uji DMRT 5% kombinasi TDZ dan asam amino glutamin (tabel 4.6) diketahui hasil terbaik untuk hari muncul tunas adalah kombinasi asam amino glutamin 150 mg/l dan TDZ 0,25 mg/l dengan rata-rata 8,75 HST. Tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan kombinasi asam amino glutamin 150 mg/l dan TDZ 0,5 mg/l berdasarkan notasi huruf yaitu a. Hasil tersebut menunjukkan bahwa perlakuan kombinasi lebih optimal jika dibandingkan dengan perlakuan tanpa pemberian asam amino glutamin dan perlakuan tunggal tanpa pemberian TDZ dibuktikan dengan hari muncul tunas yang lebih cepat ketika keduanya dikombinasikan. Menurut (Lestari,

2013), TDZ berpotensi memacu regenerasi tunas secara *in vitro*, dan memacu pembentukan tunas adventif pada beberapa jenis tumbuhan karena dapat menginduksi proses pembelahan sel secara cepat pada kumpulan sel yang bersifat meristematik sehingga terbentuk primordia tunas. Sebagaimana telah dijelaskan oleh Hafizh *et al.*, (2019) bahwa pemberian sitokinin eksogen dapat meningkatkan pembelahan sel pada sintesis DNA. Sitokinin mendorong pembelahan sel dalam biakan jaringan dengan cara meningkatkan peralihan dari G2 (fase istirahat) ke mitosis sehingga laju sintesis protein meningkat dan pembelahan sel semakin cepat.

Jumlah tunas tertinggi dan panjang tunas tertinggi berdasarkan uji DMRT 5% adalah kombinasi 0,5 mg/l TDZ dan 150 mg/l glutamin dengan rata-rata jumlah tunas 16,75 dengan notasi p dan rata-rata tinggi tunas 0,65 cm dengan notasi g. Namun, pada parameter jumlah tunas kombinasi TDZ 0,5 mg/l dan 150 mg/l glutamin menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan kombinasi TDZ 0,25 mg/l dan 150 mg/l glutamin dengan notasi op. Sedangkan pada parameter tinggi tunas perlakuan dengan 0,5 mg/l TDZ dan 150 mg/l glutamin tidak berbeda nyata dengan perlakuan 0,75 mg/l TDZ dan glutamin 150 mg/l dengan notasi fg. Perlakuan dengan kombinasi 0,75 mg/l TDZ dan 150 mg/l glutamin juga tidak berbeda nyata dengan perlakuan kombinasi 0,25 TDZ mg/l dan glutamin 150 mg/l dengan notasi cdef. Hal ini menunjukkan bahwa TDZ dengan konsentrasi 0,25 mg/l, 0,5 mg/l, dan 0,75 mg/l ketika dikombinasikan dengan glutamin 150 mg/l memberikan pengaruh yang kecil dan tidak berbeda secara nyata. Dapat disimpulkan bahwa jika ingin mendapatkan hasil yang efektif maka dapat menggunakan TDZ 0,25 mg/l, tetapi jika dihatapkan hasil optimal yang terbaik adalah konsentrasi TDZ 0,5 mg/l. Hasil penelitian di atas menunjukkan bahwa TDZ memiliki peran yang sangat penting ketika dikombinasikan dengan glutamin pada semua parameter. Dibuktikan dengan hasil yang didapatkan dimana dari ketiga parameter tersebut yang paling optimal ditunjukkan ketika glutamin dengan konsentrasi yang sama 150 mg/l dengan TDZ yang berbeda 0,25 mg/l, 0,5 mg/l, 0,75 mg/l.

TDZ memiliki sifat paling aktif dan mampu menginduksi lebih besar dalam proliferasi tunas *in vitro* dari sitokinin lainnya pada beberapa jenis tanaman (Restanto, 2018). TDZ berfungsi untuk merangsang sel-sel di meristem apikal untuk membelah dan kemudian berkembang sehingga terjadi diferensiasi tunas. Dibuktikan dengan penelitian Swandra (2012), TDZ lebih efektif menginduksi tunas PLBs dibanding BA dan zeatin pada anggrek *Doritaenopsis* dan *Dendrobium*. Dibuktikan dengan hasil penelitian ini dengan pemberian 0,5 mg/l TDZ mampu menghasilkan jumlah tunas tertinggi dengan rata-rata 16,75 dan tinggi tunas tertinggi dengan rata-rata 0,65 cm. Pengaruh yang sama telah dilaporkan oleh Rineksane *et al* (2018), pada pertumbuhan *Protocorm Like Bodies* (PLB) anggrek *Vanda tricolor* dengan penambahan konsentrasi 0,5 mg/l TDZ menghasilkan jumlah tunas terbanyak dengan rata-rata 11,80. Kemudian penelitian Karyanti (2017) pada anggrek *Vanda douglas*, menyatakan bahwa pertambahan tunas terbaik dengan rata-rata jumlah tunas 8.00 diperoleh pada perlakuan dengan penambahan TDZ 0,5 mg/l, dibandingkan dengan konsentrasi 1 mg/l dan 1,5 mg/l.

Selain itu, optimasi media juga dilakukan dengan menambahkan nitrogen organik atau asam amino berupa glutamin. Penambahan glutamin mampu meningkatkan pertumbuhan tunas karena berperan sebagai salah satu sumber nitrogen organik (Shrivasta, 2008). Hal ini sesuai dengan hasil yang diperoleh pada penelitian ini bahwa pemberian glutamin berpengaruh terhadap pertumbuhan tunas *Protocorm Like Body* (PLB) Anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchbf.) dengan menggunakan nitrogen organik siap pakai yang ada pada media untuk melakukan metabolisme sehingga sel eksplan akan cepat terpacu untuk melakukan pembelahan sel (Asharo, 2013). Berdasarkan uji DMRT 5% menunjukkan dengan pemberian asam amino glutamin 150 mg/l memberikan hasil jumlah tunas terbanyak dan tinggi tunas tertinggi. Penelitian ini sejalan dengan Sinha, P and Miskat A.A.J (2012) menggunakan glutamin untuk mengamati perbanyak tunas *Rhynchostylis retusa* (Lin.) dengan pemberian 150 mg/l glutamin menunjukkan hasil yang nyata terhadap pembentukan tunas baru dari eksplan tunas yang lama dengan rata-rata jumlah tunas terbanyak yaitu 68,8 tunas

dan menunjukkan hasil panjang tunas tertinggi dengan rata-rata 2,6 cm selama 8 minggu setelah tanam.

Berdasarkan data analisis, penambahan asam amino glutamin pada perlakuan kombinasi berpengaruh nyata terhadap semua parameter pengamatan. Dibuktikan dengan hasil rata-rata hari muncul tunas yang lebih cepat, jumlah tunas yang lebih banyak, dan berpengaruh nyata terhadap parameter tinggi tunas. Hasil tersebut lebih baik dibandingkan perlakuan tunggal dari masing-masing perlakuan. Menurut Kartini (2017), Kombinasi antara TDZ dan berbagai asam amino lainnya mampu meningkatkan perbanyakan tunas pada berbagai tanaman secara *in vitro*. Salah satu peran asam amino yakni sebagai aktivator hormon dan sebagai sumber nitrogen yang dibutuhkan tanaman untuk melakukan pembelahan sel (Campbell, 2004). Menurut Kartini (2017), Pemberian unsur nitrogen pada media tanam dapat meningkatkan pertumbuhan tunas pada tanaman. Nitrogen berperan dalam proses pertumbuhan tunas dengan dua cara yaitu mengatur metabolisme nitrogen dan mengatur hormon endogen. Nitrogen yang telah diserap kemudian digunakan untuk biosintesis komponen organik bernitrogen seperti klorofil dan nukleotida. Penambahan glutamin pada media kultur menyebabkan eksplan tidak perlu melakukan sintesis glutamin dari NH_4^+ yang tersedia pada media karena salah satu sifat sel adalah lebih utama menggunakan persediaan nutrisi yang siap pakai untuk proses metabolismenya sehingga sel eksplan akan cepat terpacu untuk melakukan pembelahan sel (Paschalidis *et al.*, 2019).

4.4 Pengaruh Perlakuan Kombinasi TDZ dan Asam Amino Glutamin terhadap Warna Tunas *Protocorm Like Body* (PLB) Anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f)

Hasil pengamatan warna tunas *Protocorm Like Body* (PLB) Anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) pada 60 hari setelah tanam (HST), menunjukkan 15 variasi warna tunas yang terbentuk dari kombinasi TDZ dan asam amino glutamin. Variasi warna yang didapatkan berdasarkan *color grab* adalah warna *Dell*, *Verdun*

Green, Clover, Finch, Avocado, Chalet Green, Dark Olive Green, Fiji Green, dan *Green Leaf* yang tergolong warna hijau muda. Selain itu terdapat warna yang tergolong hijau tua yaitu *Myrtle, Palm Leaf, Seaweed* dan *Turtle Green*. Data Pengamatan morfologi warna tunas disajikan pada tabel 4.7.

Tabel 4.7 Pengamatan warna tunas *Protocorm Like Body (PLB) Anggrek *Debdrobium stratiotes* Rchb.f)*

Perlakuan	Σ Variasi Warna	Warna tunas (<i>Color Grab</i>)	Spesifikasi Warna (Hex)
G0T0		Verdun Green	#405B0F
G0T1		Chalet Green	#5A6A40
G0T2		Green Leaf	#51632E
G0T3	5	Dell	#476127
G0T4		Myrtle	#257510F
G0T5		Verdun Green	#46621C
GIT0		Verdun Green	#3A550A
GIT1		Chalet Green	#5B6D39
GIT2	4	Dell	#4E6133
GIT3		Dell	#466930
GIT4		Dark Olive Green	#566820
GIT5		Verdun Green	#3E5818
G2T0		Verdun Green	#2F5717
G2T1		Fiji Green	#59780F
G2T2	4	Fiji Green	#55759F
G2T3		Avocado	#8B9667

G2T4		Palm Leaf	#2F532C
G2T5		Palm Leaf	#374929
<hr/>			
G3T0		Seaweed	#3B4527D
G3T1	5	Chalet Olive Green	#546836
G3T2		Chalet Green	#656F3D
G3T3		Chalet Olive Green	#5D6C44
G3T4		Turtle Green	#374A14
G3T5		Palm Leaf	#384A2A
<hr/>			
G4T0		Army Green	#445925
G4T1		Dark Olive Green	#546836
G4T2	5	Green Leaf	#4E6326
G4T3		Army Green	#5A6A38
G4T4		Finch	#707B57
G4T5		Clover	#4154424
<hr/>			
G5T0		Verdun Green	#425C12
G5T1		Verdun Green	#3B5D0D
G5T2	4	Clover	#455633
G5T3		Verdun Green	#395311
G5T4		Myrtle	#213808
G5T5		Turtle Green	#324B08
<hr/>			

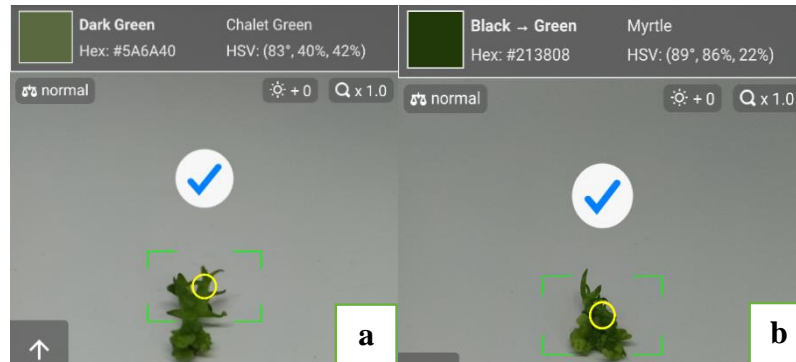
Berdasarkan tabel 4.7 diketahui ketika pemberian asam amino glutamin dengan konsentrasi 0 mg/l (G0), 150 mg/l (G3), dan 200 mg/l (G4) menghasilkan 5 variasi warna. Sedangkan pemberian asam amino glutamin dengan konsetrasi 50 mg/l (G1),

100 mg/l (G2), dan 250 mg/l menghasilkan 4 variasi warna. Hal ini menunjukkan pemberian asam amino glutamin berpengaruh terhadap pembentukan warna yang dihasilkan pada tunas. Namun berdasarkan hasil pengamatan warna tunas (tabel 4.7) semakin tinggi pemberian TDZ maka terjadi peningkatan warna hijau pada tunas dibuktikan dengan perlakuan dengan pemberian konsentrasi TDZ 1 mg/l dan 1,25 mg/l. Hal ini dikarenakan perlakuan dengan pemberian TDZ konsentrasi TDZ 1 mg/l dan 1,25 mg/l tidak banyak melakukan pembelahan sel dan terjadi pertumbuhan daun yang semakin membesar.

Warna tunas yang berwarna hijau terjadi akibat penambahan TDZ dan asam amino glutamin. Hal tersebut dikarenakan efek sitokinin dalam pembentukan klorofil. Wicaksono *et al*, (2017) mengatakan bahwa penambahan sitokinin akan mendorong akumulasi klorofil. Menurut Restanto (2018), semakin tinggi pemberian TDZ maka terjadi peningkatan kandungan klorofil. Hal ini disebabkan adanya pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh sitokinin sintetis yang kuat dari TDZ sehingga mempengaruhi jumlah mRNA yang menyediakan beberapa protein yang mengikat klorofil (Rineksane, 2013). Menurut Salisbury dan Ross (1995), penambahan sitokinin akan memacu perkembangan kloroplas dan klorofil, dengan dua cara, yaitu memacu perkembangan lanjut (dalam keadaan terang) etioplas menjadi kloroplas, khususnya dengan mendorong pembentukan grana, dan meningkatkan laju pembentukan klorofil dengan meningkatkan sintesis glutamate (Mendrofa, 2021). Pemberian asam amino glutamin juga berpengaruh terhadap kandungan klorofil eksplan karena asam amino glutamin merupakan sumber nitrogen yang tidak hanya sebagai pembentuk asam-asam

amino dalam tanaman, tetapi sebagai regulator gen *phosphoenolpyruvate carboxylase* (PEPC), *nitrat reduktase* (NR), *light harvesting complex protein* (LHCP) serta klorofil a/b serta sangat dibutuhkan dan penting untuk pembesaran sel dan pertumbuhan tanaman (Sugiharto *et al*, 1992).

Hasil terbaik pengamatan warna tunas pada penelitian ini adalah tunas yang berwarna *Chalet Green*, *Dark Olive Green*, *Green Leaf*, *Fiji Green* dan *Avocado* yang merupakan warna-warna hijau muda. Hasil menunjukkan bahwa tunas dengan warna hijau muda terdapat pada perlakuan pemberian TDZ 0,25 mg/l, 0,5 mg/l dan 0,75 mg/. Hal ini dikarenakan warna hijau muda menunjukkan sel muda yang bersifat meristematik yang mengalami pembelahan terus menerus dalam periode waktu yang lama (Fleming, 2006). Oleh karena itu pada penelitian ini warna tunas hijau muda merupakan indikator tunas yang baik dengan hasil multipliasi tunas yang lebih optimal dibandingkan dengan warna tunas hijau tua. Berdasarkan hasil pengamatan yang telah dilakukan diketahui terdapat tunas yang berwarna *Dell*, *Verdun Green*, *Army Green*, *Clover Turtle Green*, *Palm Leaf*, *Seaweed* dan *Myrtle* dengan warna hijau tua yang terdapat pada perlakuan dengan pemberian TDZ 0 mg/l, 1 mg/l dan 1,25 mg/l. Hal ini dikarenakan banyaknya kandungan klorofil pada tunas *Protocorm Like Body* (PLB).



Gambar 4.3 Hasil pengamatan warna tunas menggunakan aplikasi *Color Grab* (a) *Chalet Green* (Hijau Muda), (b) *Myrtle* (Hijau Tua).

Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan, diketahui secara garis besar warna tunas pada penelitian ini adalah berwarna hijau. Dengan spesifikasi hijau muda dan hijau tua (Gambar 4.5). Warna hijau yang terdapat pada tunas PLB disebabkan adanya kandungan klorofil. Klorofil merupakan pigmen yang berperan dalam fotosintesis sebagai penyerap cahaya berupa pigmen yang berwarna hijau (Wirmasari, 2019). Menurut Setiawati *et al* (2015), warna PLB yang baik ialah berwarna hijau. *Protocorm Like Body* (PLB) yang berwarna hijau menandakan kaya akan nutrisi (Ningrum & Mayra 2022). Tunas yang berwarna hijau muda menunjukkan sel-sel muda yang bersifat meristematik yaitu aktif melakukan pembelahan dibuktikan dengan jumlah multiplikasi yang lebih optimal dibandingkan tunas yang berwarna dan hijau tua (Fleming, 2006). Pada penelitian ini, tunas yang berwarna hijau tua tidak banyak melakukan pembelahan sel diduga akan munculnya daun yang lebih banyak. Hal ini sesuai dengan Dospusari (2003), bahwa PLB yang telah membentuk daun berwarna hijau tua yang dibuktikan dengan hasil penelitian ini bahwa PLB yang telah membentuk daun berwarna hijau tua. Maka dapat disimpulkan bahwa tunas yang baik

pada penelitian ini adalah tunas yang berwarna hijau muda dengan hasil pertumbuhan tunas yang lebih cepat dan jumlah multiplikasi tunas yang lebih banyak sehingga memberikan hasil multiplikasi tunas *Protocorm Like Body* (PLB) yang optimal. Namun, terdapat faktor lain pembentukan klorofil seperti cahaya, gula, karbohidrat, suhu, air, serta unsur-unsur hara seperti N, Mg DAN Fe juga dapat mempengaruhi kadar klorofil pada eksplan dan meningkatkan warna hijau pada tunas *Protocorm Like Body* (PLB) (Wicaksono *et al*, 2017).

4.5 Pembahasan Hasil Penelitian dalam Integrasi Sains dan Islam

Indonesia memiliki keanekaragaman jenis anggrek yang sangat tinggi. Anggrek memiliki nilai jual yang cukup tinggi dalam industri pembudidayaan tanaman hias Indonesia karena memiliki keunikan bentuk bunga dengan warna yang bervariasi. Salah satu genus anggrek yang banyak diminati masyarakat adalah genus *Dendrobium*. Genus *Dendrobium* merupakan genus anggrek terbesar yang jumlahnya diperkirakan mencapai 275 spesies (Tria Dewi, 2014). Genus *Dendrobium* banyak diminati masyarakat karena memiliki banyak variasi warna, mahkota bunga yang tidak mudah rontok dan kesegaran yang tahan lama sehingga memiliki nilai estetika keindahan yang tinggi dan banyak diminati oleh kalangan kolektor tanaman hias (Setiawati *et al.*, 2016).

Allah berfirman dalam Q.S Al-Hajj ayat 5:

وَتَرَى الْأَرْضَ هَامِدَةً فَإِذَا أَنْزَلْنَا عَلَيْهَا الْمَاءَ اهْتَزَّتْ وَرَبَتْ وَأَنْبَتَتْ مِنْ كُلِّ زَوْجٍ بَهِيجٍ ٥

Artinya: “Dan kamu lihat bumi ini kering, kemudian apabila telah Kami turunkan air (hujan) di atasnya, hiduplah bumi itu dan menjadi subur dan menumbuhkan berbagai jenis pasangan (tetumbuhan) yang indah”.

Ayat di atas menjelaskan bahwa unsur air menjadi penyebab tumbuhnya berbagai macam tumbuhan yang menjadikan keberkahan bagi umat manusia. Menurut Shihab (2012), Allah menurunkan air dan memperlihatkan tanda kehidupan dan memunculkan berbagai jenis tumbuhan yang indah, memukau, dan membuat siapa saja senang melihatnya. Dalam kitab tafsir Fath Al-Qadir karya Asy-Syaukani (2008) menjelaskan diksi “*al-Bahjah*” yang dipresentasikan dalam lafadz “*bahij*” yang diartikan sesuatu yang baik, lalu menarik bagi yang melihatnya. Seperti halnya Allah SWT. menumbuhkan beragam jenis tanaman anggrek. Salah satunya adalah anggrek genus *Dendrobium* yang memiliki banyak variasi warna yang indah dan menarik.

Salah satu jenis anggrek genus *Dendrobium* yang menempati posisi teratas pasar anggrek adalah anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) selain memiliki bentuk bunga dan warna yang indah, anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) merupakan anggrek spesies yang digunakan sebagai induk dalam persilangan. Tidak hanya itu, kelebihan lain yang dimiliki anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) adalah dengan mengeluarkan bau yang harum (Rachmawati *et al*, (2016). Banyaknya peminat dari anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) menyebabkan perlunya dilakukan perbanyakan untuk melindungi kelestarian dari ancaman kepunahan. Salah satu metode budidaya tanaman anggrek yang efektif dan efisien adalah dengan metode kultur *in vitro*. Media kultur *in vitro* dibuat dengan menyesuaikan kebutuhan tanaman. Suatu

faktor penunjang biasa ditambahkan dalam media kultur *in vitro* untuk mempengaruhi pertumbuhan suatu tanaman. Dalam penelitian ini, untuk menunjang pertumbuhan tanaman anggrek secara optimal dilakukan penambahan TDZ dan asam amino glutamin dengan berbagai konsentrasi untuk mengetahui kadar terbaik bagi pertumbuhan tanaman anggrek. Penambahan TDZ dan asam amino glutamin yang sesuai akan mempercepat dan memperbanyak tunas yang tumbuh dan sebaliknya, konsentrasi TDZ dan asam amino glutamin yang tidak sesuai akan mempengaruhi proses fisiologis tanaman. Sebagaimana Firman Allah dalam Q.S Al-Qomar ayat 49 yang berbunyi:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ۙ ٤٩

Artinya: “Sungguh, Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran”

Ayat di atas menjelaskan bahwa Allah menciptakan segala sesuatu menurut ukuran yang telah ditetapkan. Dalam tafsir Kementerian Agama Republik Indonesia (2022), seluruh makhluk hidup Allah ciptakan menurut ukuran yaitu suatu sistem dengan ketentuan yang tetap disertai ketetapan takdirnya. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian ini yang menunjukkan bahwa penggunaan beberapa konsentrasi TDZ dan asam amino glutamin untuk multiplikasi tunas secara *in vitro Protocorm Like Body* (PLB) anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) menunjukkan beberapa respon yang baik pada eksplan. Penambahan kombinasi TDZ 0,25 mg/l dan asam amino glutamin 150 mg/l menunjukkan hasil yg efektif untuk hari muncul tunas dengan 8,75 HST dan menunjukkan hasil yang efektif untuk parameter jumlah tunas dengan rata-rata 16,75.

Kemudian konsentrasi TDZ 0,5 mg/l dan asam amino 150 mg/l juga menghasilkan hasil efektif dengan rata-rata tinggi tunas terbaik 0,65 cm dibandingkan perlakuan lain. Berdasarkan hasil penelitian ini dapat diketahui bahwa untuk mempercepat dan memperbanyak pertumbuhan tunas *Protocorm Like Body (PLB)* Anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rhcb.f) pada multiplikasi dibutuhkan konsentrasi yang sesuai.

Menurut Al-Maraghi (1974) dalam kitab tafsirnya menjelaskan bahwa Q.S Al-Qomar ayat 49 di atas menjelaskan bahwa semua yang ada dalam kehidupan di dunia tidaklah terjadi secara kebetulan, akan tetapi dengan keputusan dan ketentuan Allah SWT. Hal ini sesuai dengan pendapat Ibnu Katsir (1992), bahwa yang dimaksud dengan lafadz “Biqodrin” adalah menurut takdir yang telah ditentukan sebelumnya.

Hasil penelitian ini merupakan bukti kekuasaan Allah SWT, dimana manusia dapat melihat bagaimana Allah SWT menunjukkan pertumbuhan suatu tanaman. Seperti bagaimana tunas PLB anggrek tumbuh. Semoga dapat menjadikan pelajaran bagi kita sebagai manusia yang dianugerahi akal dan fikiran untuk berusaha semaksimal mungkin mengatur kehidupan yang seimbang dan sebagai bentuk penghargaan manusia terhadap alam semesta.

Hasil dari penelitian ini merupakan wujud keagungan Allah SWT dan sudah sepatutnya manusia meningkatkan keimanan dan ketaqwaan pada Allah SWT seluruh ciptaan-Nya di bumi semata-mata untuk kepentingan dan kesejahteraan makhluknya. Namun perlu diingat bahwa manusia juga berperan sebagai khalifah di bumi yang bertugas untuk menjaga kelestarian yang sudah Allah SWT berikan. Ilmu pengetahuan

diartikan sebagai semua data atau informasi yang diberikan Allah SWT untuk manusia. Dalam hal ini manusia berkewajiban untuk mencari ilmu-ilmu yang telah disediakan Allah yang belum diketahui manusia untuk diaplikasikan dalam kehidupan sehari-hari. Seiring perkembangannya ilmu pengetahuan dan teknologi menunjukkan teknik baru untuk mempercepat dan mempermudah pertumbuhan tanaman dengan teknik kultur jaringan *in vitro* karena sudah seharusnya para peneliti tidak berhenti pada level observasi, melainkan terus berusaha menjadi level yang berakal. Sebagaimana yang dijelaskan dalam Q.S Ali Imran ayat 190-191:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمٰوٰتِ وَالْاَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيٰتٍ لِّاُولٰٓئِ الَّذِيْنَ اَلْبَابُ ۙ ۱۹۰
 الَّذِيْنَ يَذْكُرُوْنَ اللّٰهَ قِيَامًا وَّفُجُوْدًا وَّعَلٰى جُنُوْبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُوْنَ فِيْ خَلْقِ السَّمٰوٰتِ وَالْاَرْضِ رٰنًا مَّا
 خَلَقْتَ هٰذَا بَاطِلًا سُبْحٰنَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ۙ ۱۹۱

Artinya: “*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan pergantian malam dan siang terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berakal, (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri, duduk atau dalam keadaan berbaring, dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata), “Ya Tuhan kami, tidaklah Engkau menciptakan semua ini sia-sia; Mahasuci Engkau, lindungilah kami dari azab neraka.”*”

Menurut Tafsir Ibnu Katsir “orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring” memiliki maksud bahwa mereka tidak putus berdzikir dalam semua keadaan, baik hati maupun lisan. “dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi” yakni memahami apa yang terdapat pada keduanya (langit dan bumi) dari kandungan hikmah yang menunjukkan keagungan Allah. Sungguh Allah mencela orang yang tidak mengambil pelajaran tentang makhluk-makhlukNya yang menunjukkan kepada DzatNya, sifatNya, dan tanda-tanda

kekuasaannya. “Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia” artinya, Engkau tidak menciptakan semuanya dengan sia-sia, tetapi dengan penuh kebenaran, agar Engkau memberikan balasan kepada orang-orang yang beramal buruk terhadap apa yang telah mereka kerjakan dan memberikan balasan orang-orang yang beramal baik dengan balasan surga (Al-Jaizari, 2007).

Surah Al Imran ayat 190-191 di atas menjelaskan bahwa orang-orang yang senantiasa mengingat Allah SWT dalam keadaan duduk dan berbaring sambil berdo'a kepada Allah berarti mereka selalu mengingat Allah dalam keadaan apapun. Mereka menggunakan akal pikiran dalam mempelajari segala sesuatu yang diciptakan Allah SWT di langit dan di bumi. Orang yang menggunakan akal pikiran dalam mempelajari ciptaan Allah SWT dapat mengetahui berbagai permasalahan mengenai ilmu yang dipelajari sehingga dapat mengatasi permasalahan tersebut. Seperti halnya permasalahan budidaya anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) yang memiliki banyak peminat sedangkan jumlahnya terbatas. Maka dari itu perlu dilakukan budidaya menggunakan teknik kultur jaringan (*in vitro*) untuk memperoleh tanaman dalam jumlah banyak dalam waktu yang singkat. Dalam hal ini manusia sebagai khalifah di bumi telah memainkan perannya berdasarkan bekal akal fikiran untuk menjaga kelestarian yang sudah Allah berikan.

Allah SWT berfirman dalam Al-Qur'an surah Al-Baqarah ayat 30 yang berbunyi:

وَإِذْ قَالَ رَبُّكَ لِلْمَلٰٓئِكَةِ اِنِّيْ جَاعِلٌ فِى الْاَرْضِ خَلِيْفَةً ۗ قَالُوْۤا اَتَجْعَلُ فِيْهَا مَنْ يُفْسِدُ فِيْهَا وَيَسْفِكُ الدِّمَآءَ وَنَحْنُ نُسَبِّحُ بِحَمْدِكَ وَنُقَدِّسُ لَكَ ۗ قَالَ اِنِّيْۤ اَعْلَمُ مَا لَا تَعْلَمُوْنَ ۝۳۰

Artinya: “Dan (ingatlah) ketika Tuhanmu berfirman kepada para malaikat, “Aku hendak menjadikan khalifah di bumi.” Mereka berkata, “Apakah Engkau hendak menjadikan orang yang merusak dan menumpahkan darah di sana, sedangkan kami bertasbih memuji-Mu dan menyucikan nama-Mu?” Dia berfirman, “Sungguh, Aku mengetahui apa yang tidak kamu ketahui.”

Dalam surah Al-Baqarah ayat 30 menjelaskan bahwa setiap manusia adalah khalifah yang memimpin bumi. Maksud dari khalifah adalah makhluk pilihan Allah SWT yang dipercaya mampu menjalankan kehendak dan menerapkan ketentuan-ketentuan Allah SWT. Dengan karunia akal dan pikiran serta ilmu pengetahuan manusia diharapkan dapat mengelola alam sesuai amanat yang di emban sebagai khalifah (Al-Maraghi, 1985). Hal tersebut sesuai dengan sabda Rasulullah SWA dalam hadits dari Abu Hurairah berikut ini:

كُلُّكُمْ رَاعٍ فَمَسْئُوْلٌ عَن رَعِيَّتِهِ، فَالْاَمِيْرُ الَّذِيْ عَلٰى النَّاسِ رَاعٍ وَهُوَ مَسْئُوْلٌ عَنْهُمْ، وَالرَّجُلُ رَاعٍ عَلٰى اَهْلِ بَيْتِهِ وَهُوَ مَسْئُوْلٌ عَنْهُمْ، وَالْمَرْءُ رَاعِيَةٌ عَلٰى بَيْتِ بَعْلَتِهَا وَوَلَدِهِ وَهِيَ مَسْئُوْلَةٌ عَنْهُمْ، وَالْعَبْدُ رَاعٍ عَلٰى مَالِ سَيِّدِهِ وَهُوَ مَسْئُوْلٌ عَنْهُ، اَلَا فَكُلُّكُمْ رَاعٍ وَكُلُّكُمْ مَسْئُوْلٌ عَن رَعِيَّتِهِ

“Masing-masing kalian adalah pemimpin, dan ia akan dimintai pertanggungjawaban tentang orang yang dipimpinnya. Penguasa adalah pemimpin bagi manusia, dan ia akan diminta pertanggungjawaban tentang mereka. Seorang laki-laki adalah pemimpin bagi keluarganya dan dia akan diminta pertanggungjawaban tentang mereka. Wanita adalah pemimpin bagi rumah suaminya dan anaknya, dan dia akan diminta pertanggungjawaban tentang mereka. Seorang budak adalah pemimpin terhadap harta tuannya, dan dia akan diminta pertanggungjawaban tentang harta yang diurusnya. Ingatlah, masing-masing kalian adalah pemimpin dan masing-masing kalian akan diminta pertanggungjawaban tentang kepemimpinannya.” (HR. Bukhari)

Dari hadits di atas sudah jelas bahwa dari penelitian ini diharapkan sebagai khalifah dapat menjaga tingkah lakunya untuk selalu mendekatiNya sebagai bentuk rasa syukur dengan semua yang telah Allah berikan. Apabila tidak bisa memperelajari proses perbanyakan tanaman secara keilmuan, maka cukup dengan tidak mengeksploitasi tanaman yang ada di muka bumi karena akan dipertanggungjawabkan. Secara akademis penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi dasar mengenai pemberian kombinasi TDZ dan asam amino glutamin untuk meningkatkan keberhasilan multiplikasi tunas *Protocorm Like Body* (PLB) Anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f). Bagi penulis sendiri penelitian ini diharapkan dapat menumbuhkan kesadaran dan intropeksi diri sebagai khalifah di bumi untuk menjaga kelestarian.

BAB V

PENUTUP

5.1. Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian pengaruh pemberian TDZ dan asam amino glutamin terhadap multiplikasi tunas *Protocorm Like Body* (PLB) anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rhcb.f) adalah:

1. Pemberian TDZ berpengaruh terhadap multiplikasi tunas *Protocorm Like Body* (PLB) anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rhcb.f). Konsentrasi TDZ yang efektif mempengaruhi pembentukan tunas anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rhcb.f) pada hari ke-12 HST adalah 0,25 mg/l TDZ dengan rata-rata 8,25 tunas.
2. Pemberian asam amino glutamin berpengaruh terhadap multiplikasi tunas *Protocorm Like Body* (PLB) anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rhcb.f). Konsentrasi asam amino glutamin yang efektif mempengaruhi pembentukan tunas pada hari ke-10 HST adalah 150 mg/l asam amino dengan rata-rata 8,25 tunas.
3. Kombinasi TDZ dan glutamin berpengaruh terhadap multiplikasi tunas *Protocorm Like Body* (PLB) anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rhcb.f). Kombinasi TDZ dan asam amino glutamin yang efektif mempengaruhi pembentukan tunas pada hari-8 HST adalah kombinasi 0,25 mg/l TDZ dan 150 mg/l asam amino glutamin dengan rata-rata 16,75 tunas dan rata-rata tinggi tunas 0,65 cm.

5.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, maka disarankan untuk:

1. Menggunakan kombinasi 0,25 mg/l TDZ dan 150 mg/l asam amino glutamin untuk menghasilkan multiplikasi tunas yang optimal
2. Perlu dilakukan pengamatan lebih lanjut mengenai tingkat keberhasilan aklimatisasi sebagai akibat pemberian kombinasi TDZ dan asam amino glutamin dan perlu diadakan penambahan waktu pengamatan untuk menghasilkan tinggi tunas yang optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Jazairi, Abu Bakar Jabir. 2008. *Tafsir Al-Aisar* Jilid 4. Jakarta: Darus Sunah Press.
- Al-Syaukani, *Tafsir Fath al-Qadir*, terj. 2008. Tim Pustaka Azzam. Pustaka Azzam: Jakarta.
- Al-Maraghi, A. M. 1985. *Tafsir Al-Maraghi* (Terjemahan). Juz 15. Toha Putra: Semarang.
- Ansyarif, F., Mursal, G., Aida, M., dan Rina, K. 2020. Pengaruh Ekstrak *Sargasum cristaefolium* Pada Multiplikasi *Dendrobium antennatum* Rchb.f Secara *In Vitro*. *Jurnal Ilmiah Biologi*. Vol. 8. No.1.
- Andalasari, Tri Dewi, Yafisham, dan Nuraini. 2014. Respon Pertumbuhan Anggrek *Dendrobium* Terhadap Jenis Media Tanam Dan Pupuk Daun. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. Vol. 14 No. 1.
- Andiani, Yulia. 2016. *Usaha pembibitan anggrek dalam botol (teknik in vitro)*. Yogyakarta: Pustaka Baru Press.
- Andriyani, Ade. 2017. *Membuat tanaman anggrek rajin berbunga*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Annisa, R. R. R., Arkan Setiaji., and Aries, B. S. 2021. *In Vitro* Shoot Induction of *Musa acuminata* cv. Mas Kirana. *Jurnal Pendidikan dan Biologi*. Vol.13. No.1.
- Armini, N. M., Wattimena, G. A. & Gunawan, L. W. 1992. *Perbanyakan Tanaman Bioteknologi Tanaman Laboratorium Kultur Jaringan*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor: Bogor.

- Asharo, K.R, Dini Ermavitalina, dan Nurmalasari. 2013. Pengaruh Media MS dengan Penambahan Glutamin 100 ppm Terhadap Respon Pertumbuhan dan Perkembangan Kultur Tunas Aksilar Tebu (*Saccharum officinarum*) Varietas NXI 1-3 dan THA secara *In Vitro*. *Jurnal Sains dan Semi Pomits*. Vol.2 No.1.
- Assagaf, M.H., 2012. 1001 *Spesies Anggrek yang Tumbuh dan Berbunga*. Agromedia: Jakarta.
- Astri, Ayu P. 2014. Pengaruh Pemberian Macam Suplemen dan Media Tanam Terhadap Multiplikasi Tunas Anggrek *Dendrobium* sp. Skripsi. Universitas Jember.
- Armitage, C. J., & Rowe, R. (2017). Evidence that self-affirmation reduces relational aggression: *A proof of concept trial*. *Psychology of Violence*. 7(4), 489–497.
- Azizi, Alfia Annur Aini., Ika Roostika., dan Darda Efendi. 2017. Multiplikasi Tunas *In Vitro* Berdasarkan Jenis Eksplan pada Enam Genotipe Tebu (*Saccharum officinarum* L.). *Jurnal Litri*. Vol. 23. No. 2.
- Baday, S. J. S. 2018. Plant Tissue Culture. *International Journal of Agriculture and Environmental Research*. Vol. 4. No. 4.
- Borpuzari, P. P. & Kachari, J. 2018. Effect of Glutamine for High Frequency *In Vitro* Regeneration of *Aquilaria malaccensis* Lam. Through Nodal Culture. *Journal of Medicinal Plant Studies*. Vol. 6. No. 2.
- Buitevelds, J., Molenaar, P. F. R. J. C. & Hooymans, C. M. J. 1993. Callus Induction and Plant Regeneration from Explant of Commercial Cultivars of Leek (*Allium ampeloprasum* var. *Porrium* L.). *Plant Cell Report*. Vol. 2.

- Chan, C. I., Lamb, A., Shim, P. S., and Wood, J. J., 1994. *Orchid of Borneo. Introduction and Selection of Spesies*. London: The Sabah Society Kota Kinabalu in Association with The Royal Botanical Garden Kew.
- Cordel, G. A., 1999. *Introduction to Alkaloids. A Biogenic Approach*. A Willey Interscience Publication John Willey, New York.
- Campbell, N. A. 2004. *Biologi Edisi 5 Jilid 2*. Jakarta: Erlangga.
- Chieng, L. M. N., Chen, T. Y., Sim, S. L. & Goh, D. K. S. 2014. *Induction Organogenesis and Somatic Embryogenesis of Gonystylus bancanus (Miq.) Kurz (Ramin) in Sarawak*. Malaysia: Sarawak Corporation & ITTO.
- CITES. 2021. *Checklist of CITES Species*. CITES Secretariat: Geneva.
- Cribb, P. J. (1999). *Morphology*. In A. M. Pridgeon, P. J. Cribb, M. A. Chase, and F. N. Rasmussen [eds.], *Genera orchidacearum, vol. 1, General introduction, Apostasioideae, Cyripedioideae*, 13–23. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Darmono, D. W., 2008. *Agar Anggrek Rajin Berbunga*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Darmayanti, Trisna., Mayun Pratama., Sri Wiadnyani. 2017. *Kajian Asam Amino pada Fermentasi Talas (Colocasia esculenta L. Schott)*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. Vol. 2. No.1.
- De, L.C., Rao, A. N., P.K. Rajeeven, Manoj. Srivastana dan Geetemani. Chhetri. 2015. *Morphological Characterization In Dendrobium Species*. *Journal of Global Bioscience* 1(4). 1198-1215.
- Dorusposari. B. 2003. *Pengaruh Zat Tumbuh Kinetin dan Naphthaline Acetic Acid Terhadap Pembentukan dan Perkembangan Mersitem Ujung Batang Tanaman Anggrek Hibrida Phalaenopsis Star Rio Secara In Vitro*. *Skripsi: Fakultas Biologi : UGM, Yogyakarta*.

- Dwiyani R. 2012. Respon Pertumbuhan Bibit Anggrek *Dendrobium* sp. pada Saat Aklimatisasi terhadap Beragam Frekuensi Pemberian Pupuk Daun. *Agrotrop*. Vol. 2. No. 2.
- El-Shayeb, N. S. A., Reem, H. I. H., Mohammed, I. A. M. 2021. Impact of Nano-Chitosan Rate and Glutamin Acid Concentration on Growth, Yield and Volatile Oil Production of Coriander Plants. *Journal of Bioagriculture*. Vol. 1. No. 1.
- Fang, Su-Chung., Jhun-Chen, Chen., And Miao-Ju Wei. 2016. *Protocorm* And *Protocorm Like Bodies* Are Molecularly Distinct From Zygotic Embryonic Tissue in Phalaenopsis Aphrodite. *Plant Physiology* (171): 2682-2700
- Ferziana. 2013. Pengaruh Pupuk Daun dan Arang Aktif pada Media Subkultur II terhadap Pertumbuhan Bibit Anggrek. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. Vol. 3.
- Ferrier, D.R., 2014, *Biochemistry*, Edisi 6, Lippincott Wiliams & Wilkins, China.
- Fitriani, Dwi Miswar., dan Ummi Sholikah. 2015. Pengaruh Pemberian Asam Amino (Glisin, Sistein, dan Arginin) Terhadap Pembentukan Tunas Tebu (*Saccharum Officinarum* L.) *Berkala Ilmiah Pertanian*. Vol. 10. No. 10.
- Fleming, A. 2006. *Metabolic Aspects of Organogenesis In The Shoot Apical Meristem*. *Journal of Experimental Botany*. Vol. 57. No.9. pp. 1863-1870.
- Gamborg, O.L. dan Shyluk, J.P. 1981. *Nutrition, Media and Karakteristic of Plant Tissue Culture Method and Aplication in Agriculture*. Academic Press.
- George, E. F., Hall, M. A. & De Klerk, G. J. 2007. *Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition*. UK: Exegetic Basingstone.

- George, E. F. & Sherrington, P. O. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Handbook and Directory of Commercial Laboratories. London : Exegetics Limited.
- Greenwell, Z. L. & Ruter, J. M. 2018. Effect of Glutamine and Arginine on Growth of *Hibiscus moscheutos* "In Vitro". *Ornamental Horticulture*. Vol. 24. No. 4.
- Goswami, K., Yasmin, S., K. M. Nasiruddin, F. Khatun, J. Akte. 2015. In Vitro Regeneration of *Dendrobium* sp. of Orchid Using Leaf Tip as Explant. *J. Environ. Sci. & Natural Resources*. 8(2): 75-78.
- Gunawan, L. W. 1992. *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan*. Laboratorium Kultur Jaringan. Bogor: IPB Press.
- Guo, B., Abbasi, B. H., Zeb, A., Xu, L. L., & Wei, Y. H. (2011). Thidiazuron: A Multi-Dimensional Plant Growth Regulator. *African Journal of Biotechnology*, 10(45), 8984-9000.
- Hafizh, Lutfi Taufiqul. (2019). "Induksi Tunas Eksplan Batang Kultur Meristem Stroberi (*Fragaria chiloensis*) dengan Teknik Perendaman TDZ (Thidiazuron) Pada Kombinasi Media MS dan ZPT." *Jurnal Produksi Tanaman* 6.7: 1442-1450.
- Hapsani, Arie Hasan Basri. 2016. Kajian Pemanfaatan Kultur Jaringan dalam Perbanyakan Tanaman Bebas Virus. *Agrica Ekstensia*. Vol. 10. No. 1.
- Hapsoro, Dwi dan Yusnita. 2018. *Teori dan Praktik Kultur Jaringan*. Penerbit Andi: Yogyakarta.
- Handini, Elizabeth dan Popi Aprilianti. 2020. Dosis Letal LD20 dan LD50 Serta Efek Iradasi Sinar Gamma pada Protokorm *Dendrobium discolor* Lindl. *Buletin Kebun Raya*.

- Hadjo, P. H. 2013. Perbanyak Mikro Tebu (*Saccharum spp. hybrids*) Melalui Kultur Kalus. *Jurnal Ilmiah Sains dan Teknologi*. Vol. 7. No. 1.
- Hardjo, Poppy Hartatie., Chandra Widjaja S.B., dan Wina Dian S. 2016. Induksi Protocorm Like Bodies (PLBs) *Vanda tricolor* Lindl. Var. *Pallida*. *Proceeding Seminar Nasional Biodiversitas*. Vol.6.
- Herliana, O., Eny, R., Ahmad Iqbal., dan Kartini. 2019. Pelatihan Pembibitan Anggrek Secara Vegetatif, Generatif, dan Kultur Jaringan Pada Paguyuban Mantan Buruh Migran “Seruni” Kabupaten Banyumas. *Jurnal Ilmiah Pengabdian Kepada Masyarakat*. Vol. 3. No.2.
- Ibrahim, Meynarti Sari Dewi. 2015. Faktor Penentu Keberhasilan Perbanyak Kopi (*Coffea spp.*) Melalui Embriogenesis somatik. *Sirinov*. Vol. 3. No. 3.
- Ivakkdalam, Lydya M., dan Donny J. Pugesehan. 2016. Keragaman Jenis Tanaman Anggrek (Orchidaceae) di Cagar Alam Angwarmase Kabupaten Maluku Tenggara Barat. *Jurnal Agroforestri*. Vol. 9. No. 3.
- Jane Ho, Wai., Yu Kai Huang., and Jen Ping Chung. 2021. Effective in vitro culture using dormant bud of nodal sections from a mature *Acacia* tree. *Plant Tissue Culture*.
- Kartha, K. K. 1982. *Organogenesis dan Embriogenesis* dalam Wetter, L. R. & Constabel, F. Metode Kultur Jaringan Tanaman. Diterjemahkan Oleh Mathilda B. Widodo. Bandung: ITB Press.
- Karyanti, 2017. Pengaruh Beberapa Jenis Sitokinin Pada Multiplikasi Tunas Anggrek *Vanda douglas* Secara In Vitro. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*. Vol.4 No.1.
- Kasutjianingati, Irawan R. 2013. Media Alternative Perbanyak In vitro Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis*). *Jurnal Agroteknos*. Vol. 3. No. 3.

- Khawar, K. M., Sancak, C., Uranbey, S., dan Özcan, S. (2004). Effect of Thidiazuron on Shoot Regeneration from Different Explants of Lentil (*Lens culinaris* Medik.) Via Organogenesis. *Turkish Journal of Botany*. 28(4): 421–426.
- Kiyanti, 2008. Menanam anggrek dari biji. Retrieved from <https://kiyanti2008.wordpress.com>.
- Koolprueksee, C., S. Sengsai., K. Obsuwan and C. Thepsithar. 2021. Effect of Some Organic Additives on Shoot Initiation and Shoot Multiplication of Sangmon ‘Nuan Rajinee’ Bamboo (*Dendrocalamus sericeus* Munro). *Acta Horticulturae*.
- Kumar, N. & Reddy, M. P. 2011. In Vitro Plant Propagation: A Review. *Journal of Forest Science*. Vol. 27. No. 2.
- Kumari, K., Lal, M. & Saxena, S. 2017. Enhanced Micropropagation and Tiller Formation in Sugarcane through Pretreatment of Explants with Thidiazuron (TDZ). *Biotech*. Vol. 7
- Lizawati. 2012. Poliferasi Kalus dan Embriogenesis Somatik Jarak Pagar (*Jatropha Curcas* L.) dengan Berbagai Kombinasi ZPT dan Asam Amino. *ISSN*. Vol. 1. No. 4.
- Lavanya, A. R., Muthukrishnan, S., Kumaresan, V., Benjamin, J. H. F. & Rao, M. V. 2012. In Vitro Micropropagation of *Hildegardia populifolia* (Roxb.) Schott & Endl an Endangered Tree Species from Eastern Ghats of Tamil. Nadu, India. *Journal of Agricultural Technology*. Vol. 8. No.5.
- Lee, Y.I., Hsu, S.T. dan Yeung, E.C. (2013) *Orchid Protocorm-Like Bodies are Somatic Embryos*. *Am J Bot*. 100: 2121–2131.
- Lestari, E. G., M. Rahmad S., Ani, K., dan Suci R. 2013. Inisiasi Tunas Ganda Tanaman Manggis Malinau melalui Kultur *In Vitro* untuk Perbanyak Klonal. *J. Agroon*. Indonesia.

- Lestari, E.G. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyakkan Tanaman Melalui Kultur Jaringan. *J. AgroBiogen*. 7:63-68.
- Maysyaroh, Qurrota A'yun dan Netty Ermawati. 2018. Efektifitas Jenis Asam Amino dan Variasi Konsentrasi Sukrosa Terhadap Pertumbuhan Planlet Kentang (*Solanum tuberosum* L.)
- Manzhur, Ibnu. 1999. *Lisanul aroby*. Beirut: Dar Shadir.
- Manuhara, Y. S. W. 2014. *Kapita Selektta Kultur Jaringan Tumbuhan*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Malabadi, R.B., Gangadhar S.M., dan K. Nataraja. 2004. Efficient Regeneration of *Vanda coerulea*, an Endangered Orchid Using Thidiazuron. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*.
- Mendrofa, F.N.E., Nurcahyono, W.S dan Lufti Afifah. 2021. Induction Shoots From Callus of Cucumber Apple (*Cucumis* sp.) Using A Combination of Benzil Amino Purine and Naphthalene Acetic Concentrations In Vitro. *Jurnal Mangifera Edu*. Vol.5 No.2.
- Menendez, M., Herrera, J. & Comin, F. A. 2002. Effect of Nitrogen and Phosphorus Supply on Growth, Chlorophyll Content and Tissue Composition of The Macroalga *Chaetomorpha linum*. *Scientia Marina*. Vol. 66. No. 4.
- Nika, S.S.L., Luthfi A.M Siregar., dan Emmy. H.K. 2018. Keberhasilan Terbentuknya Tunas Mikro Anggrek (*Cattleya trianae* Lindl & Rchb.fil.) dalam Beberapa Konsentrasi. *Jurnal Agroekoteknologi*. Vol. 6. No. 1.
- Ningsih, R. dan Febrianti, D. 2014. Isolasi dan Identifikasi Jenis-Jenis Jamur Mikoriza yang Berasosiasi dengan Akar Anggrek Tanah. *Jurnal Holtikultura*. Vol. 5. No. 3.

- Ningrum, F.E dan Mayta N.I. 2022. Pemberian Air Rebusan Kentang pada Media Murashige-Skoog Terhadap Pertumbuhan *Protocorm* Anggrek Sendu (*Grammatophyllum stapelliflorum*) Secara *In Vitro*. *Jurnal Ilmiah Pertanian*. Vol.19. No.1.
- Nurjaman, D., Innaka, A. R., Bambang, H. I. 2015. Kajian Penggunaan Jenis Eksplan dan Thidiazuron untuk Multiplikasi Tunas Adventif Tanaman Sarang Semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & L.M.Perry). *Prosiding Seminar Nasional FKPTPI*.
- Nurmaryam, S., 2011. *Strategi Pengembangan Usaha Tanaman Anggrek* (Studi Kasus: Maya Orchid Taman Anggrek Indonesia Permai Jakarta Timur). Fakultas Ekonomi dan Manajemen Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Okumoto, S., Funck, D., Trovato, M. & Forlani, G. 2016. Editorial: Amino Acids of The Glutamate Family: Function Beyond Primary Metabolism. *Frontiers in Plant Sciences*. Vol. 7.
- Pangestika, Dinda., Samanhudi., dan Eddy Triharyanto. 2015. Kajian Pemberian IAA dan Paclobutrazol Terhadap Pertumbuhan Eksplan Bawang Putih. *IKB*.
- Pardal, S. J. 2002. Perkembangan Penelitian Regenerasi dan Transformasi pada Tanaman Kedelai. *Buletin AgroBio*. Vol. 5. No. 2.
- Paletri, T.S., Endang, N., Yulianti., dan Rochmah, A. 2019. Stomata Index of *Cattleya* sp. Lindl., Planlet in Drought-Stress Conditions. *Jurnal Ilmiah Biologi Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati*. Vol. 6. No. 1.
- Paek KY, Hahn EJ., Park SY. 2011. Micropropagation of *Phalaenopsis* Orchids via Protocorm And Protocorm Like Bodies. *Method Mol. Bio* (710):293-306.
- Paul, Sumi., Kumaria, Suman ., and Pramod. Tandon. 2012. An effective nutrient medium for asymbiotic seed germination and large-scale in vitro regeneration

of *Dendrobium hookerianum*, a threatened orchid of northeast India. *AoB PLANT*. 32: 1-7.

Purwanto, Arie Wijayani. 2016. *Anggrek Budidaya dan Perbanyakkan*. Penerbit LPPM UPN Veteran: Yogyakarta.

Pierik, R. M. L. 1987. *In Vitro Culture of Higher Plant*. Nederland: Marthinus Nijhoft Pub.

Pranata, M.G., A.Yunus., dan B. Pujiasmanto. 2015. Pengaruh konsentrasi NAA dan air kelapa terhadap multiplikasi temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) secara in vitro. *UNS: Journal of Sustainable Agriculture*. Vol. 2.

Prasetyo, Cahyo. *Teknik Kultur Jaringan Anggrek Dendrobium sp.* Di Pembudidayaan Anggrek Widorokandang Yogyakarta. Surakarta: Universitas Sebelas Maret, 2009.

Prasetyorini. 2019. *Kultur Jaringan*. Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Pakuan: Bogor.

Qomariyah, Umi K.N. 2019. Propagasi *Dendrobium stratiotes* Rchb.f Dengan Benziladenin Secara In Vitro. *Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian*. Vol.1. No.1.

Rachmawati, T. A., Sucipto H., Hery P. 2016. Keanekaragaman Morfologi Bunga Pada Spesies Anggrek Dalam Genus *Dendrobium*.

Rajkarnikar, S. *et al.*, 2019. Comparative Study of Extra Capsular Cataract Extraction (ECCE) and Small Incision Cataract Surgery (SICS): Experience on Cataract Surgery in a Tertiary Center of Army Hospital, Kathmandu. *Nepalese Journal of Ophthalmology*, 10(2), pp. 162-167.

Ramadan, V. R., Niken K., dan Sumeru, A., 2016. Kajian Pemberian Zat Pengatur Tumbuh Terhadap Pertumbuhan Stek Tanaman Buah Naga (*Hylocereus costaricensis*).

- Rasullah, F. F. F., Nurhidayati, T. & Nurmalasari. 2013. Respon Pertumbuhan Tunas Kultur Meristem Apikal Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum*) Varietas NXI 1-3 secara *In Vitro* pada Media MS dengan Penambahan Arginin dan Glutamin. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. Vol. 2. No. 2.
- Restanto, P. D., Kriswanto, B., Mohammad, N. K., dan Sigit, Soeparjono. 2018. Kajian Thidiazuron (TDZ) Dalam Induksi PLB Anggrek *Phalaenopsis* sp Secara *In Vitro*. *Agritrop*. Vol. 16. No.1.
- Restanto P.R., Budi K., Nafisah I., dan Parawita D. 2021. Pengaruh *Naphthalene Acetic Acid* (NAA) dan Kinetin Terhadap Perkembangan *Protocorm Like Body* (PLB) dan Regenerasi Anggrek *Phalaenopsis* sp. Hybrid. *Jurnal Agrikultura*. Vol.2.
- Rineksane, S. I.A dan B, H. Isnawan. 2013. Pengaruh Thidiazuron dan NAA Terhadap Multiplikasi Tunas Biji Tanaman Sarang Semut (*Myrmecodia pendans*) Secara *In Vitro*.
- Rineksane, I. A., Sri Wahyuni., Gatot S., dan Agung Astuti. 2018. Pertumbuhan *Protocorm Like Bodies* (PLB) Anggrek *Vanda tricolor* Pada Berbagai Media dan Konsentrasi Thidiazuron.
- Rusmiati, Henny. 2015. Pengaruh konsentrasi dan Jenis Paclobutrazol pada Media Vacin and Went (vw) terhadap Pertumbuhan Anggrek Dendrobium Hibrid Secara *In Vitro*. Makalah. Malang: Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Muhammadiyah Malang.
- Sari, D. I., Suwirman. & Nasir, N. 2015. Pengaruh Konsentrasi Thidiazuron (TDZ) dan Arang Aktif pada Subkultur Tunas Pisang Kepok Hijau (*Musa paradisiaca* L.). *Online Journal of Natural Science*. Vol. 4. No. 3.

- Sarika Shrivastava, and Meenakshi Banerjee. 2008. *In Vitro* Clonal Propagation of Physic nut (*Jatropha curcos* L.): Influence of Additives. *International Journal of Integrative Biology*. Vol.3 No.1.
- Saepudin, Adam., Yanto Yulianto., dan Rida Nurul A., 2020. Pertumbuhan Eksplan *In Vitro* Anggrek Hibrida Dendrobium pada Beberapa Media Dasar dan Konsentrasi Air Kelapa. *Media Pertanian*. Vol. 5. No. 2.
- Santosa U, dan Nursandi F. 2004. *Kultur JaringanTanaman*. Malang: Penerbit UMM Press.
- Salisbury, F B dan Ross, C.W. 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. (Diterjemah oleh Diah R.L dan Sumaryono). Penerbit ITB: Bandung.
- Shahsavari, E. 2011. Impact of Tryptophan and Glutamine on The Tissue Culture of Upland Rice. *Plant, Soil and Environment*. Vol. 57. No. 1.
- Sharma, Anshu., Rajinder Kaur and Neha Sharma. 2014. In Vitro Morphogenic response of different explant of *Gentiana kurroo* Royle from Western Himalayas an Endangered Medical Plant. *Physiol Mol Biol Plants*. Vol.20. No.2.
- Shihab, M. Quraisy. 2012. *Tafsir Al-Mishbah: Pesan, Kesan dan Keserasian*. Lentera Hati: Jakarta.
- Sinha, Pinaki and Miskat A. A. J. 2012. Clonal Propagation of *Rhynchosytilis* (Lin.) Blume Through In Vitro Culture and Establishment in the Nursery. *Plant Tissue Culture & Biotech*. Vo.22. No.1.
- Sinha, Pinaki., M. Lokman Hakim., and M. Firoz Alam. 2009. *In Vitro* Mass Clonal Propagation of *Spathoglottis plicata* Blume. *Plant Tissue Cult & Biotech*. Vol.19. No.2.

- Sugiharto, B., Burnell, J.N., Sugiyama T. 1992. *Cytokinin is required to induce the nitrogen-dependent accumulation of mRNAs for phosphoenolpyruvate carboxylase and carbonic anhydrase in detached maize leaves*. *Plant Physiol* 100:153-156.
- Setiari, Nintya dan Yulita Nurchayati. 2019. Pertumbuhan Vegetatif Anggrek *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. setelah pemberian monosodium glutamate dan pupuk “Hortech”. *Jurnal Biologi Tropika*. Vol. 2. No.2.
- Setiawati, T., Mohamad Nurzaman., Elis. S.R., Gina. G.P. 2019. Pertumbuhan Tunas Anggrek *Dendrobium* sp. Menggunakan Benzyl Amino Purin (BAP) dengan Ekstrak Bahan Organik pada Media *Vacin and Went*. *Jurnal Pro-Life*. Vol. 3. No. 3.
- Setiawai Y., Ida, A.A., dan Ni Putu A.A., 2015. Perbanyak Anggrek *Dendrobium heterocarpum* Lindl. Secara *In Vitro*. dengan Media yang Berbeda. *Jurnal Metamorfosa*. Vol.2. No.1.
- Shahzad, A., Faisal, M., Ahmad, N., Anis, M., Alatar, A. & Hend, A. A. 2012. An Efficient System For In Vitro Multiplication of *Ocimum basilicum* Through Node Culture. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 11. No. 22.
- Sitorus, E. N., Endah, D. H. & Setiari, N. 2011. Induksi Kalus Binahong (*Basella rubra* L.) secara *In Vitro* pada Media Murashige and Skoog dengan Konsentrasi Sukrosa yang Berbeda. *Bioma*. Vol. 13. No. 1.
- Siwach, P. & Gill, A. R. 2012. Enhanced Shoot Multiplication in *Ficus religiosa*L. in The Presence of Adenine Sulphate, Glutamine and Phloroglucinol. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. Vol. 17. No. 3.
- Sucandra, A., Fetmi, S., dan Arnis, E, Y. 2015. Uji Pemberian Beberapa Konsentrasi Glisin Pada Media *Vacin Went* (VW) Terhadap Pertumbuhan Planlet Anggrek (*Dendrobium* sp) Secara *In Vitro*. *Jom Faperta*. Vol.2. No.1.

- Sulistyo, Rico. H., Zayyan Luthfiyyah., Buana Susilo., Narullah. D., Eko Chandra. W., Nuniek Yuliana., dan Endry Nugroho P. 2018. Pengaruh Teknik Sterilisasi dan Komposisi Medium terhadap Pertumbuhan Tunas Eksplan Sirsak Ratu. *Jurnal Pendidikan Biologi*. Vol. 11. No. 1.
- Staba, E. J. 1982. *Plant Tissue Culture as Source of Biochemical*. CRC Press Inc. Boca Raton. Florida. Vol. 4. No. 10.
- Swandra, E.M. I dan Netty W. 2012. Surya Multiplikasi Tunas Andalas (*Morus macroura* Miq. var. *macroura*) dengan Menggunakan Thidiazuron dan Sumber Eksplan Berbeda secara *In Vitro*. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. Vol.1. No.1.
- Tafsir Kemenag Republik Indonesia. 2022.
- Taha, Rania. A., Mai. A. A., Basem, M. M. B., and Mona, M. H. 2021. Thidiazuron Induced Direct Organogenesis From Immature Inflorescence of Three Date Palm Cultivar. *Journal of Genetic Engineering*.
- Tikhomirova, L I. 2020. Scientific Framework for selecting explants of Iris L. genus for direct shoot regeneration. *Agritech*.
- Tyas, Kartika Ning., Slamet Susanto., Iswari S. D., dan Nurul Khumaida. 2016. Organogenesis Tunas Secara Langsung pada Pamelon (*Citrus maxima* (Burm.) Merr.). *Buletin Kebun Raya*. Vol. 19. No. 1.
- Tuhuteru, S., Hehanussa, M. L., dan Raharjo, S. H. T., 2012. Pertumbuhan dan perkembangan anggrek *Dendrobium anosmum* pada media kultur in vitro dengan beberapa konsentrasi air kelapa. *Jurnal Ilmu Budidaya Tanaman*. Vol. 1. No. 1.
- Wattimena, G. A., Livy, W. G., Nurhayati, A. M., Endang, S., Ni Made, A. W. & Andri, E. 1992. *Bioteknologi Tanaman*. Bogor: Departemen Pendidikan

Kebudayaan, Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, PAU Bioteknologi Institut Pertanian Bogor.

- Wicaksono, F.Y., Putri, Y. Y., dan T. Nurmala. 2017. Respons Tanaman Gandum Akibat Pemberian Sitokinin Berbagai Konsentrasi dan Waktu Aplikasi di Dataran Medium Jatinangor. *Jurnal Kultivasi*. Vol.16. No.2.
- Williams, B., 1989. *Orchid for Everyone*. Gallery Book Inc, New York.
- Wijayani, Y. & Mudyantini, W. 2007. Pertumbuhan Tunas dan Struktur Anatomi Protocorm Like Body Anggrek *Grammatophyllum scriptum* (Lindl.) Bl. dengan Pemberian Kinetin dan NAA. *Bioteknologi*. Vol. 4. No. 2.
- Winarto, B. 2011. Pengaruh Glutamin dan Serin Terhadap Kultur Anter *Anthurium andraeanum* cv. Tropical. *Jurnal Holtikultura*. Vol. 2. No. 4.
- Wirmasari, R dan Mayta N.I. 2019. Respons Pertumbuhan *Protocorm* Anggrek *Grammatophyllum stapelliflorum* (Teijsm & Binn.) J.J.Sm. Secara *In Vitro* pada Beberapa Komposisi Media. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. Vol.7. No.2
- Yong, H. S., 1990. *Orchid Portraits, Wild Orchid of Malaysia and Southeast Asia*. Tropical Press, Malaysia.
- Yulanda, Rampe, L.H., & Rumondor, J.M. (2011). Struktur sel epidermis dan stomata daun beberapa tumbuhan suku orchidaceae. *Jurnal Bioslogos*, 1(1), (pp.14-19).
- Yusnita. 2004. *Kultur jaringan: Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Yusnita. 2010. *Kultur Jaringan: Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Zulkarnain, 2009. *Kultur Jaringan Tanaman Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya*. Bumi Aksara: Jambi.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Pengamatan

1. Hari Muncul Tunas

Kode	Konsentrasi (mg/l)		Ulangan				Jumlah	Rata-rata
	Glutamin	TDZ	1	2	3	4		
G0T0	0	0	14	14	15	15	58	14,5
G0T1	0	0,25	14	13	13	13	53	13,25
G0T2	0	0,5	12	13	13	13	51	12,75
G0T3	0	0,75	13	12	12	12	49	12,25
G0T4	0	1	13	12	13	12	50	12,5
G0T5	0	1,25	13	12	13	13	51	12,75
G1T0	50	0,5	12	11	11	11	45	11,25
G1T1	50	0,25	12	11	12	12	47	11,75
G1T2	50	0,5	11	11	11	12	45	11,25
G1T3	50	0,75	13	12	13	12	50	12,5
G1T4	50	1	13	13	12	13	51	12,75
G1T5	50	1,25	13	13	13	14	53	13,25
G2T0	100	0	11	12	11	11	45	11,25
G2T1	100	0,25	10	8	9	10	37	9,25
G2T2	100	0,5	11	10	11	10	42	10,5
G2T3	100	0,75	13	13	12	12	50	12,5
G2T4	100	1	14	14	13	12	53	13,25
G2T5	100	1,25	14	14	14	13	55	13,75

G3T0	150	0	11	11	10	9	41	10,25
G3T1	150	0,25	8	10	9	8	35	8,75
G3T2	150	0,5	9	11	10	9	39	9,75
G3T3	150	10	9	10	10	6	35	8,75
G3T4	150	1	11	10	11	12	44	11
G3T5	150	1,25	13	12	13	14	52	13
G4T0	200	0	12	12	13	12	49	12,25
G4T1	200	0,25	13	13	12	12	50	12,5
G4T2	200	0,5	12	12	13	14	51	12,75
G4T3	200	0,75	13	12	12	13	50	12,5
G4T4	200	1	14	14	15	15	58	14,5
G4T5	200	1,25	15	16	16	14	61	15,25
G5T0	250	0	14	14	14	13	55	13,75
G5T1	250	0,25	13	12	12	13	50	12,5
G5T2	250	0,5	14	15	14	15	58	14,5
G5T3	250	0,75	14	14	13	13	54	13,5
G5T4	250	1	15	14	14	15	58	14,5
G5T5	250	1,25	17	16	15	15	63	15,75

2. Jumlah Tunas

Kode	Konsentrasi (mg/l)		Ulangan				Jumlah	Rata-rata
	Glutamin	TDZ	1	2	3	4		
G0T0	0	0	7	8	7	7	29	7,25
G0T1	0	0,25	8	8	8	9	33	8,25
G0T2	0	0,5	9	8	9	8	34	8,5
G0T3	0	0,75	8	8	8	7	31	7,75
G0T4	0	1	6	6	7	7	26	6,5
G0T5	0	1,25	6	5	5	4	20	5
G1T0	50	0	9	7	8	8	32	8
G1T1	50	0,25	10	11	11	10	42	10,5
G1T2	50	0,5	12	13	12	14	51	12,75
G1T3	50	0,75	11	9	9	10	39	9,75
G1T4	50	1	8	10	9	8	35	8,75
G1T5	50	1,25	9	9	10	10	38	9,5
G2T0	100	0	10	9	10	10	39	9,75
G2T1	100	0,25	12	11	12	11	46	11,5
G2T2	100	0,5	15	16	14	15	60	15
G2T3	100	0,75	10	10	10	9	39	9,75
G2T4	100	1	10	9	10	9	38	9,5
G2T5	100	1,25	9	8	8	10	35	8,75
G3T0	150	0	12	12	11	11	46	11,5
G3T1	150	0,25	17	15	14	17	63	15,75
G3T2	150	0,5	18	17	16	16	67	16,75

G3T3	150	0,75	12	13	11	12	48	12
G3T4	150	1	9	11	9	10	39	9,75
G3T5	150	1,25	8	7	10	9	34	8,5
G4T0	200	0	10	11	10	10	41	10,25
G4T1	200	0,25	12	12	11	11	46	11,5
G4T2	200	0,5	12	13	13	13	51	12,75
G4T3	200	0,75	10	9	9	11	39	9,75
G4T4	200	1	9	7	8	9	33	8,25
G4T5	200	1,25	7	7	8	6	28	7
G5T0	250	0	4	5	4	4	17	4,25
G5T1	250	0,25	6	4	4	5	19	4,75
G5T2	250	0,5	7	6	6	6	25	6,25
G5T3	250	0,75	6	6	5	5	22	5,5
G5T4	250	1	5	5	5	6	21	5,25
G5T5	250	1,25	4	5	4	4	17	4,25

3. Tinggi Tunas

Kode	Konsentrasi (mg/l)		Ulangan				Jumlah	Rata-rata
	Glutamin	TDZ	1	2	3	4		
G0T0	0	0	0,4428	0,5375	0,528	0,528	2,0363	0,509075
G0T1	0	0,25	0,5875	0,5	0,5375	0,5222	2,1472	0,5368
G0T2	0	0,5	0,5333	0,5875	0,5222	0,5375	2,1805	0,545125
G0T3	0	0,75	0,5125	0,5	0,5125	0,514	2,039	0,50975
G0T4	0	1	0,5166	0,5166	0,514	0,5	2,0472	0,5118
G0T5	0	1,25	0,5166	0,52	0,5	0,5	2,0366	0,50915
G1T0	50	0	0,5222	0,4571	0,5125	0,5125	2,0043	0,501075
G1T1	50	0,25	0,53	0,5272	0,5181	0,5444	2,1197	0,529925
G1T2	50	0,5	0,5333	0,6909	0,525	0,5214	2,2706	0,56765
G1T3	50	0,75	0,5181	0,5222	0,5222	0,5363	2,0988	0,5247
G1T4	50	1	0,525	0,52	0,522	0,525	2,092	0,523
G1T5	50	1,25	0,5111	0,5111	0,5	0,51	2,0322	0,50805
G2T0	100	0	0,5333	0,53	0,51	0,5	2,0733	0,518325
G2T1	100	0,25	0,525	0,554	0,5444	0,5363	2,1597	0,539925
G2T2	100	0,5	0,5533	0,6	0,6714	0,5466	2,3713	0,592825
G2T3	100	0,75	0,53	0,5375	0,54	0,5444	2,1519	0,537975
G2T4	100	0,5	0,51	0,5111	0,52	0,522	2,0631	0,515775
G2T5	100	1,25	0,522	0,525	0,525	0,52	2,092	0,523
G3T0	150	0	0,6	0,6083	0,5454	0,5	2,2537	0,563425
G3T1	150	0,25	0,5647	0,56	0,5857	0,6	2,3104	0,5776
G3T2	150	0,5	0,6	0,6777	0,625	0,7	2,6027	0,650675

G3T3	150	0,75	0,5416	0,6909	0,6909	0,5555	2,4789	0,619725
G3T4	150	1	0,5444	0,5	0,555	0,54	2,1394	0,53485
G3T5	150	1,25	0,4	0,528	0,53	0,5	1,958	0,4895
G4T0	200	0	0,51	0,5363	0,5	0,54	2,0863	0,521575
G4T1	200	0,25	0,516	0,525	0,5454	0,5363	2,1227	0,530675
G4T2	200	0,5	0,6	0,5444	0,52	0,6909	2,3553	0,588825
G4T3	200	0,75	0,6	0,523	0,5444	0,523	2,1904	0,5476
G4T4	200	1	0,5333	0,528	0,525	0,5647	2,151	0,53775
G4T5	200	1,25	0,4428	0,5285	0,5375	0,5166	2,0254	0,50635
G5T0	250	0	0,525	0,5	0,52	0,525	2,07	0,5175
G5T1	250	0,25	0,4333	0,5	0,52	0,5	1,9533	0,488325
G5T2	250	0,5	0,528	0,4333	0,5166	0,54	2,0179	0,504475
G5T3	250	0,75	0,4333	0,5166	0,54	0,5	1,9899	0,497475
G5T4	250	1	0,5	0,52	0,5166	0,52	2,0566	0,51415
G5T5	250	1,25	0,5	0,52	0,54	0,52	2,08	0,52

Lampiran 2. Hasil ANOVA dan Uji Lanjut DMRT 5%

1. Hari Muncul Tunas

a. TDZ

Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		24
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	.0000000
	Std. Deviation	1.58760729
Most Extreme Differences	Absolute	.147
	Positive	.147
	Negative	-.112
Kolmogorov-Smirnov Z		.722
Asymp. Sig. (2-tailed)		.674

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
HARI MUNCUL TUNAS	Based on Mean	.600	5	18	.701
	Based on Median	.600	5	18	.701
	Based on Median and with adjusted df	.600	5	9,000	.702
	Based on trimmed mean	.600	5	18	.701

Anova

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
HARI MUNCUL TUNAS	Between Groups	13,708	5	2,742	9,400	.000
	Within Groups	5,250	18	.292		
	Total	18,958	23			

HARI MUNCUL TUNAS				
Duncan ^a				
TDZ	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
T3 (0,75 mg/l)	4	12,25		
T4 (1 mg/l)	4	12,50	12,50	
T5 (1,25 mg/l)	4	12,50	12,50	
T2 (0,5 mg/l)	4	12,75	12,75	
T1 (0,25 mg/l)	4		13,25	
T0 (0mg/l)	4			14,50
Sig.		,245	,087	1,000

b. Glutamin

Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		24
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.0000000
	Std. Deviation	1.58760729
Most Extreme Differences	Absolute	.147
	Positive	.147
	Negative	-.112
Kolmogorov-Smirnov Z		.722
Asymp. Sig. (2-tailed)		.674

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
HARI MUNCUL TUNAS	Based on Mean	1,320	5	18	,300
	Based on Median	,840	5	18	,539
	Based on Median and with adjusted df	,840	5	15,00	,542
	Based on trimmed mean	1,251	5	18	,327

Anova

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
HARI MUNCUL TUNAS	Between Groups	53,208	5	10,642	28,378	,000
	Within Groups	6,750	18	,375		
	Total	59,958	23			

HARI MUNCUL TUNAS					
Duncan ^a					
GLUTAMIN	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
G3 (150 mg/l)	4	10,25			
G1 (50 mg/l)	4		11,25		
G2 (100 mg/l)	4		11,25		
G4 (200 mg/l)	4			12,25	
G5 (250 mg/l)	4				13,75
G0 (0mg/l)	4				14,50
Sig.		1,000	1,000	1,000	,100

c. TDZ dan Glutamin

Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		144
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	.0000000
	Std. Deviation	1.75073907
Most Extreme Differences	Absolute	.103
	Positive	.049
	Negative	-.103
Kolmogorov-Smirnov Z		1.230
Asymp. Sig. (2-tailed)		.097

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Hari muncul tunas	Based on Mean	1,513	35	108	,055
	Based on Median	,941	35	108	,568
	Based on Median and with adjusted df	,941	35	30,3 28	,572
	Based on trimmed mean	1,376	35	108	,109

Hari muncul tunas					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	412,500	35	11,786	21,758	,000
Within Groups	58,500	108	,542		
Total	471,000	143			

Hari muncul tunas

Duncan^a

Glutamin dan Tdz	N	Subset for alpha = 0.05											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
G3T1	4	8,75											
G3T3	4	8,75											
G2T1	4	9,25	9,25										
G3T2	4	9,75	9,75	9,75									
G3T0	4		10,25	10,25	10,25								
G2T2	4			10,50	10,50								
G3T4	4				11,00	11,00							
G1T0	4				11,25	11,25	11,25						
G1T2	4				11,25	11,25	11,25						
G2T0	4				11,25	11,25	11,25						
G1T1	4					11,75	11,75	11,75					

G0T3	4						12,25	12,25	12,25				
G4T0	4						12,25	12,25	12,25				
G0T4	4							12,50	12,50	12,50			
G1T3	4							12,50	12,50	12,50			
G2T3	4							12,50	12,50	12,50			
G4T1	4							12,50	12,50	12,50			
G4T3	4							12,50	12,50	12,50			
G5T1	4							12,50	12,50	12,50			
G0T2	4							12,75	12,75	12,75			
G0T5	4							12,75	12,75	12,75			
G1T4	4							12,75	12,75	12,75			
G4T2	4							12,75	12,75	12,75			
G3T5	4								13,00	13,00			
G0T1	4								13,25	13,25			
G1T5	4								13,25	13,25			
G2T4	4								13,25	13,25			
G5T3	4								13,50	13,50	13,50		
G2T5	4									13,75	13,75		
G5T0	4									13,75	13,75		
G0T0	4										14,50	14,50	
G4T4	4										14,50	14,50	
G5T2	4										14,50	14,50	
G5T4	4										14,50	14,50	
G4T5	4											15,25	15,25
G5T5	4												15,75
Sig.		,082	,071	,178	,096	,206	,096	,118	,053	,053	,101	,206	,339

2. Jumlah Tunas

a. TDZ

Uji Normalitas**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Unstandardized Residual
N		144
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	.0000000
	Std. Deviation	1.75073907
Most Extreme Differences	Absolute	.103
	Positive	.049
	Negative	-.103
Kolmogorov-Smirnov Z		1.230
Asymp. Sig. (2-tailed)		.097

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Uji Homogenitas

JUMLAH TUNAS	Based on Mean	,216	5	18	,951
	Based on Median	,415	5	18	,832
	Based on Median and with adjusted df	,415	5	11,791	,829
	Based on trimmed mean	,246	5	18	,936

ANOVA					
Jumlah Tunas					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	33,708	5	6,742	19,416	,000
Within Groups	6,250	18	3,47		
Total	39.958	23			

JUMLAH TUNAS					
Duncan ^a					
TDZ	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
T5 (1,25 mg/l)	4	5,00			
T4 (1 mg/l)	4		6,50		
T0 (0mg/l)	4		7,25	7,25	
T3 (0,75 mg/l)	4			7,75	7,75
T1 (0,25 mg/l)	4				8,25
T2 (0,5 mg/l)	4				8,50
Sig.		1,000	,089	,246	,104

b. Glutamin

Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		20
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	.0000000
	Std. Deviation	1.36497542
Most Extreme Differences	Absolute	.183
	Positive	.164
	Negative	-.183
Kolmogorov-Smirnov Z		.820
Asymp. Sig. (2-tailed)		.513

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Uji Homogenitas

JUMLAH TUNAS	Based on Mean	,216	5	18	,951
	Based on Median	,415	5	18	,832
	Based on Median and with adjusted df	,415	5	11,791	,829
	Based on trimmed mean	,246	5	18	,936

ANOVA					
Jumlah Tunas					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	33,708	5	6,742	19,416	,000
Within Groups	6,250	18	3,47		
Total	39.958	23			

JUMLAH TUNAS					
Duncan ^a					
GLUTAMIN	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
G5 (250 mg/l)	4	5,00			
G4 (200 mg/l)	4		6,50		
G0 (0mg/l)	4		7,25	7,25	
G3 (150 mg/l)	4			7,75	7,75
G1 (50 mg/l)	4				8,25
G2 (100 mg/l)	4				8,50
Sig.		1,000	,089	,246	,104

c. TDZ dan Glutamin

Uji Normalitas**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Unstandardized Residual
N		144
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.0000000
	Std. Deviation	3.03745381
Most Extreme Differences	Absolute	.070
	Positive	.070
	Negative	-.047
Kolmogorov-Smirnov Z		.840
Asymp. Sig. (2-tailed)		.481

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Jumlah tunas	Based on Mean	1,343	35	108	,127
	Based on Median	1,162	35	108	,276
	Based on Median and with adjusted df	1,162	35	79,674	,287
	Based on trimmed mean	1,345	35	108	,126

ANOVA					
Jumlah tunas					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1336,188	35	38,177	64,676	,000
Within Groups	63,750	108	,590		
Total	1399,938	143			

Jumlah tunas																		
Duncan ^a																		
Subset for alpha = 0.05																		
Glutamin dan Tdz	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
G0T0	4	4,25																
G0T5	4	4,25																
G0T1	4	4,75	4,75															
G0T5	4	5,00	5,00															
G0T4	4	5,25	5,25	5,25														
G0T3	4		5,50	5,50	5,50													
G0T2	4			6,25	6,25	6,25												
G0T4	4				6,50	6,50												
G0T5	4					7,00	7,00											
G0T0	4					7,25	7,25	7,25										
G0T3	4						7,75	7,75	7,75									
G1T0	4						8,00	8,00	8,00									
G0T1	4							8,25	8,25	8,25								
G4T4	4							8,25	8,25	8,25								
G0T2	4								8,50	8,50	8,50							
G3T5	4									8,50	8,50	8,50						
G1T4	4									8,75	8,75	8,75						
G2T5	4									8,75	8,75	8,75						
G1T5	4									9,50	9,50	9,50						
G2T4	4									9,50	9,50	9,50						
G1T3	4										9,75	9,75						
G2T0	4										9,75	9,75						
G2T3	4										9,75	9,75						
G3T4	4										9,75	9,75						
G4T3	4										9,75	9,75						
G4T0	4										10,25							
G1T1	4										10,50	10,50						
G2T1	4											11,50	11,50					
G3T0	4											11,50	11,50					
G4T1	4											11,50	11,50					
G3T3	4												12,00	12,00				
G1T2	4													12,75	12,75			
G4T2	4														12,75			
G2T2	4															15,00		
G3T1	4															15,75	15,75	
G3T2	4																16,75	
Sig.			,104	,214	,054	,054	,066	,066	,104	,121	,050	,056	,125	,056	,409	,197	,170	,068

3. Tinggi tunas

a. TDZ

Uji Normalitas**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Unstandardized Residual
N		144
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.0000000
	Std. Deviation	1.75073907
Most Extreme Differences	Absolute	.103
	Positive	.049
	Negative	-.103
Kolmogorov-Smirnov Z		1.230
Asymp. Sig. (2-tailed)		.097

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Uji Homogentitas

TINGGI TUNAS	Based on Mean	2,731	5	18	,053
	Based on Median	,808	5	18	,559
	Based on Median and with adjusted df	,808	5	6,684	,580
	Based on trimmed mean	2,344	5	18	,083

ANOVA

ANOVA					
Tinggi Tunas					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,005	5	.001	1,313	,303
Within Groups	,015	18	.001		
Total	,020	23			

TINGGI TUNAS		
Duncan ^a		
TDZ	N	Subset for alpha = 0.05
		1
T3 (0,75 mg/l)	4	,5075
T0 (0mg/l)	4	,5100
T5 (1,25 mg/l)	4	,5100
T4 (1 mg/l)	4	,5125
T1 (0,25 mg/l)	4	,5375
T2 (0,5 mg/l)	4	,5450
Sig.		,116

b. Glutamin

Uji Normalitas**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Unstandardized Residual
N		144
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.0000000
	Std. Deviation	3.03745381
Most Extreme Differences	Absolute	.070
	Positive	.070
	Negative	-.047
Kolmogorov-Smirnov Z		.840
Asymp. Sig. (2-tailed)		.481

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Uji Homogenitas

TINGGI TUNAS	Based on Mean	3,734	5	18	,017
	Based on Median	1,198	5	18	,349
	Based on Median and with adjusted df	1,198	5	6,106	,408
	Based on trimmed mean	3,216	5	18	,030

ANOVA					
Tinggi Tunas					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,010	5	.002	1,811	,161
Within Groups	,019	18	.001		
Total	,029	23			

TINGGI TUNAS			
Duncan ^a			
GLUTAMIN	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
G1 (50 mg/l)	4	,5000	
G0 (0mg/l)	4	,5100	,5100
G5 (250 mg/l)	4	,5100	,5100
G2 (100 mg/l)	4	,5175	,5175
G4 (200 mg/l)	4	,5225	,5225
G3 (150 mg/l)	4		,5625
Sig.		,392	,054
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.			

c. TDZ dan Glutamin

Uji Normalitas**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Unstandardized Residual
N		144
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	.0000000
	Std. Deviation	1.75073907
Most Extreme Differences	Absolute	.103
	Positive	.049
	Negative	-.103
Kolmogorov-Smirnov Z		1.230
Asymp. Sig. (2-tailed)		.097

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Uji Homogenitas**Test of Homogeneity of Variances**

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Tinggi Tunas	Based on Mean	5,876	35	108	,130
	Based on Median	2,030	35	108	,103
	Based on Median and with adjusted df	2,030	35	25,622	,333
	Based on trimmed mean	5,082	35	108	,030

ANOVA

ANOVA					
Tinggi Tunas					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,183	35	,005	3,221	,000
Within Groups	,175	108	,002		
Total	,358	143			

Tinggi Tunas

Duncan^a

Glutamin dan Tdz	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
G5T1	4	,4875						
G5T3	4	,4975	,4975					
G1T0	4	,5000	,5000					
G5T2	4	,5025	,5025					
G4T5	4	,5050	,5050	,5050				
G0T3	4	,5075	,5075	,5075				
G1T5	4	,5075	,5075	,5075				
G3T4	4	,5075	,5075	,5075				
G0T0	4	,5100	,5100	,5100				
G0T5	4	,5100	,5100	,5100				
G5T0	4	,5100	,5100	,5100				
G0T4	4	,5125	,5125	,5125				
G2T4	4	,5150	,5150	,5150	,5150			
G5T4	4	,5150	,5150	,5150	,5150			
G3T5	4	,5175	,5175	,5175	,5175			
G1T4	4	,5200	,5200	,5200	,5200			
G2T5	4	,5200	,5200	,5200	,5200			
G4T0	4	,5200	,5200	,5200	,5200			
G5T5	4	,5200	,5200	,5200	,5200			
G1T3	4	,5250	,5250	,5250	,5250			
G1T1	4	,5300	,5300	,5300	,5300			
G0T1	4	,5375	,5375	,5375	,5375			
G4T4	4	,5375	,5375	,5375	,5375			
G2T3	4	,5375	,5375	,5375	,5375			
G2T0	4	,5425	,5425	,5425	,5425			
G0T2	4	,5450	,5450	,5450	,5450	,5450		
G4T3	4	,5450	,5450	,5450	,5450	,5450		
G2T1	4	,5500	,5500	,5500	,5500	,5500		
G4T1	4	,5500	,5500	,5500	,5500	,5500		
G3T0	4		,5625	,5625	,5625	,5625	,5625	
G1T2	4		,5650	,5650	,5650	,5650	,5650	

G3T1	4			,5750	,5750	,5750	,5750	
G2T2	4				,5850	,5850	,5850	
G4T2	4					,6100	,6100	,6100
G3T3	4						,6175	,6175
G3T2	4							,6500
Sig.		,085	,063	,053	,050	,055	,094	,189

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

Lampiran 3. Perhitungan Komposisi Media VW

- Total botol infus yang digunakan
= 36 perlakuan x 4 ulangan = 144 botol infus
- Aquades
= per botol infus berisi 12 ml x 144 botol infus = 1728 ml = 1,728 l
- Media VW instan = 1,67 x 1,728 = 2,885 gr
- Gula = 20 x 1,728 = 34,56 gr
- Agar-agar = 10 x 1,728 = 17,28 gr

Lampiran 4. Perhitungan Larutan Stok

- TDZ

$$\text{Larutan stok TDZ 100 ppm dalam 100 ml aquades} = \frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} = \frac{10 \text{ mg}}{100 \text{ ml}}$$

Pengambilan larutan stok

- Konsentrasi TDZ 0,25 mg/l

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 0,25 \text{ mg/l} \times 48 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{0,25 \times 48}{100} = 0,12 \text{ mg/l} = 120 \mu\text{l}$$

- Konsentrasi TDZ 0,5 mg/l

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 0,25 \text{ mg/l} \times 48 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{0,5 \times 48}{100} = 0,24 \text{ mg/l} = 240 \text{ } \mu\text{l}$$

- c. Konsentrasi TDZ 0,75 mg/l

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 0,75 \text{ mg/l} \times 48 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{0,75 \times 48}{100} = 0,36 \text{ mg/l} = 360 \text{ } \mu\text{l}$$

- d. Konsentrasi TDZ 1 mg/l

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 1 \text{ mg/l} \times 48 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{1 \times 48}{100} = 0,48 \text{ mg/l} = 480 \text{ } \mu\text{l}$$

- e. Konsentrasi TDZ 1,25

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 1,25 \text{ mg/l} \times 48 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{1,25 \times 48}{100} = 0,60 \text{ mg/l} = 600 \text{ } \mu\text{l}$$

2. Larutan Stok Glutamin

$$\text{Larutan stok glutamin } 10.000 \text{ ppm} = \frac{10.000 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} = \frac{1000 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} = \frac{1 \text{ g}}{100 \text{ mg}}$$

- a. Konsentrasi glutamin 50 mg/l

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$10.000 \text{ ppm} \times V1 = 50 \text{ mg/l} \times 48 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{50 \times 48}{1000} = 2400 \text{ mg/l} = 0,24 \text{ ml} = 240 \text{ } \mu\text{l}$$

- b. Konsentrasi glutamin 100 mg/l

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$10.000 \text{ ppm} \times V1 = 100 \text{ mg/l} \times 48 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{100 \times 48}{1000} = 4800 \text{ mg/l} = 0,48 \text{ ml} = 480 \text{ } \mu\text{l}$$

- c. Konsentrasi glutamin 150 mg/l

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$10.000 \text{ ppm} \times V1 = 150 \text{ mg/l} \times 48 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{150 \times 48}{1000} = 7200 \text{ mg/l} = 0,72 \text{ ml} = 720 \text{ } \mu\text{l}$$

- d. Konsentrasi glutamin 200 mg/l

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$10.000 \text{ ppm} \times V1 = 200 \text{ mg/l} \times 48 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{200 \times 48}{1000} = 9600 \text{ mg/l} = 0,96 \text{ ml} = 960 \text{ } \mu\text{l}$$

- e. Konsentrasi glutamin 250 mg/l

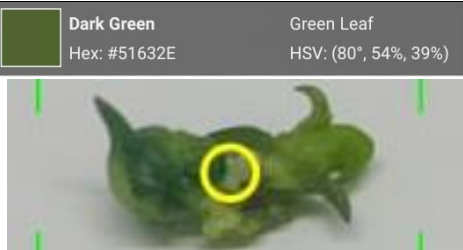
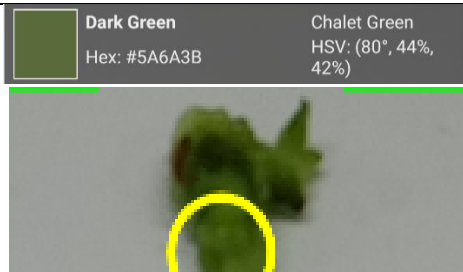
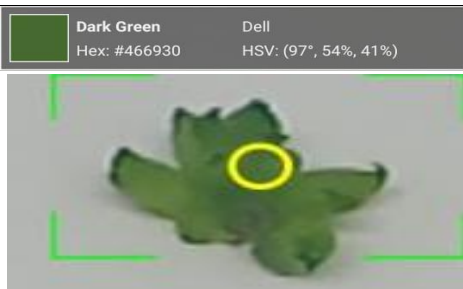
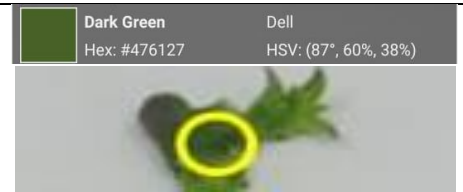
$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$



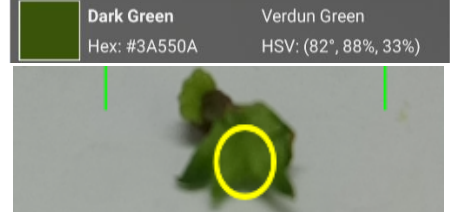
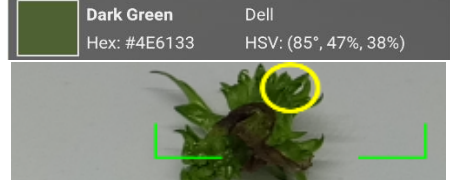
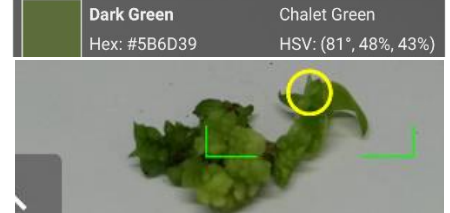
$$10.000 \text{ ppm} \times V1 = 250 \text{ mg/l} \times 48 \text{ ml}$$











$$V1 = \frac{250 \times 48}{1000} = 12.000 \text{ mg/l} = 1,25 \text{ ml} = 1200 \text{ } \mu\text{l}$$

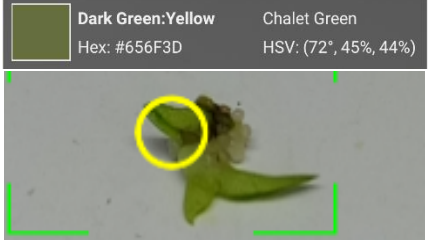
3. Larutan DMSO 5% 100 ml = larutkan DMSO 5 ml dalam 95 ml aquades

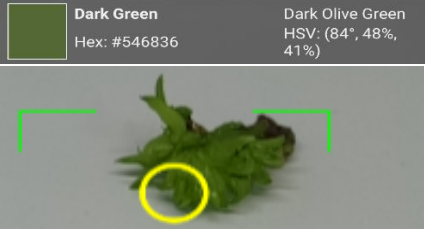
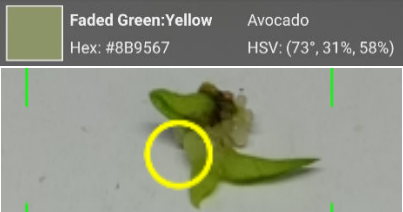

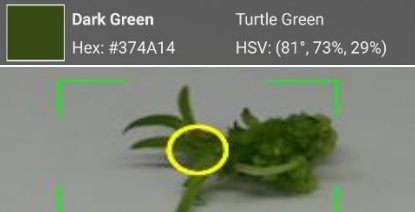
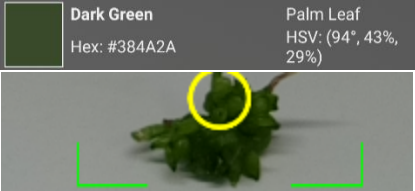
Lampiran 5 Hasil Pengamatan Morfologi Warna Tunas

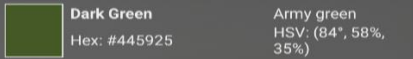
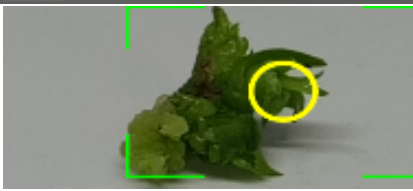

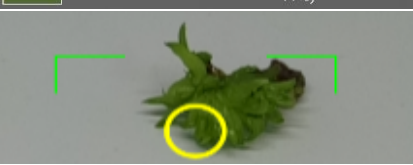


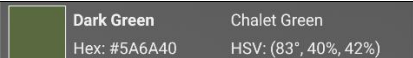
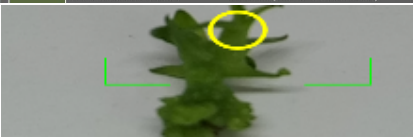

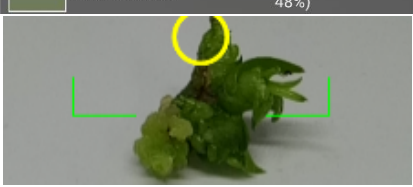
Perlakuan	Warna Tunas (Color Grab)	Hex
 <p>Glu 0 mg/l + TDZ 0 mg/l</p>	DG (Green Leaf)	#51632E
 <p>Glu 0 mg/l + TDZ 0,25 mg/l</p>	DG (Chalet Green)	#5A6A40
 <p>Glu 0 mg/l + TDZ 0,5 mg/l</p>	DG (Dell)	#466930
 <p>Glu 0 mg/l + TDZ 0,75 mg/l</p>	DG (Dell)	#476127

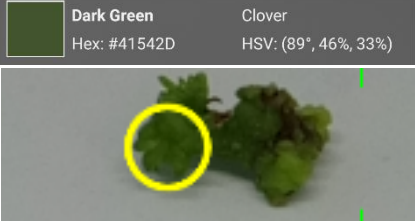
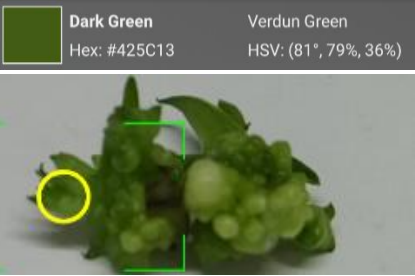
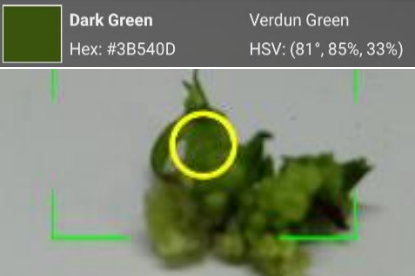
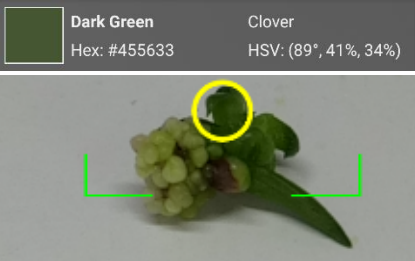
 <p>Dark Green Hex: #27510F</p> <p>Myrtle HSV: (98°, 81%, 32%)</p> <p>Glu 0 mg/l + TDZ 1 mg/l</p>	DG (Myrtle)	#27510F
 <p>Dark Green Hex: #46621C</p> <p>Verdun Green HSV: (84°, 71%, 38%)</p> <p>Glu 0 mg/l + TDZ 1,25 mg/l</p>	DG (Verdun Green)	#46621C
 <p>Dark Green Hex: #3A550A</p> <p>Verdun Green HSV: (82°, 88%, 33%)</p> <p>Glu 50 mg/l + TDZ 0 mg/l</p>	DG (Verdun Green)	#3A550A
 <p>Dark Green Hex: #4E6133</p> <p>Dell HSV: (85°, 47%, 38%)</p> <p>Glu 50 mg/l + TDZ 0,25 mg/l</p>	DG (Dell)	#4E6133
 <p>Dark Green Hex: #5B6D39</p> <p>Chalet Green HSV: (81°, 48%, 43%)</p> <p>Glu 50 mg/l + TDZ 0,5 mg/l</p>	DG (Chalet Green)	#5B6D39

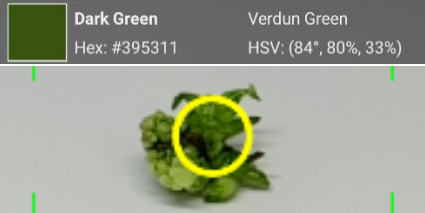
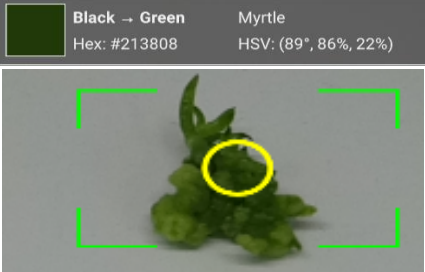
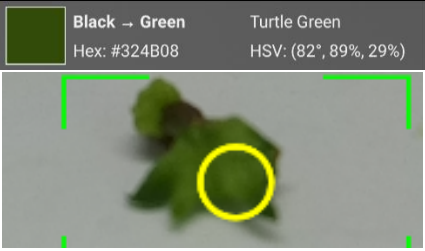
  <p>Glu 50 mg/l + TDZ 0,75 mg/l</p>	DG (Verdun Green)	#405B0F
  <p>Glu 50 mg/l + TDZ 1 mg/l</p>	DG (Dark Olive Green)	#566820
  <p>Glu 50 mg/l + TDZ 1,25 mg/l</p>	DG (Verdun Green)	#3E5818
  <p>Glu 100 mg/l + TDZ 0 mg/l</p>	DG (Verdun Green)	#2F5717
  <p>Glu 100 mg/l + TDZ 0,25 mg/l</p>	DFG: Yellow (Fiji Green)	#59780F

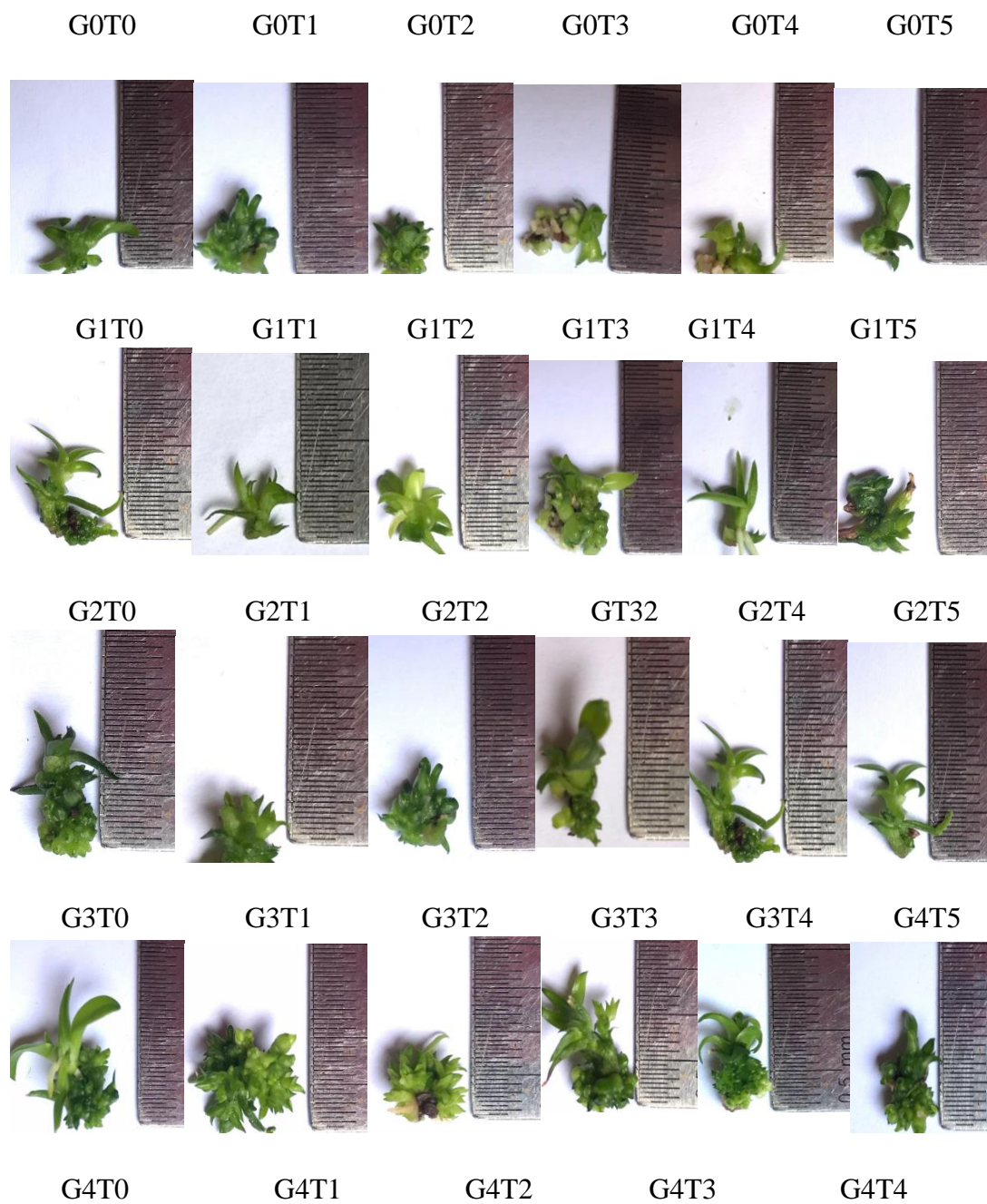
 <p>Glu 100 mg/l + TDZ 0,5 mg/l</p>	DFG: Yellow (Fiji Green)	#55759F
 <p>Glu 100 mg/l + TDZ 0,75 mg/l</p>	DG: Yellow (Chalet Green)	#656F3D
 <p>Glu 100 mg/l + TDZ 1 mg/l</p>	DG (Palm Leaf)	#2F532C
 <p>Glu 100 mg/l + TDZ 1,25 mg/l</p>	DG (Palm Leaf)	#374929
 <p>Glu 150 mg/l + TDZ 0 mg/l</p>	DG (Seaweed)	#3B4527d

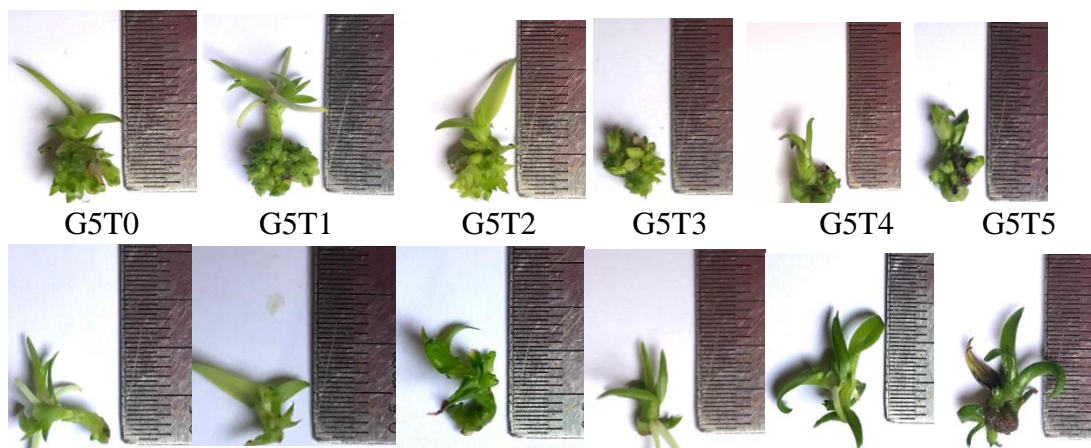
 <p>Dark Green Hex: #546836</p> <p>Dark Olive Green HSV: (84°, 48%, 41%)</p> <p>Glu 150 mg/l + TDZ 0,25 mg/l</p>	<p>DG (Chalet Olive Green)</p>	<p>#546836</p>
 <p>Faded Green:Yellow Hex: #8B9567</p> <p>Avocado HSV: (73°, 31%, 58%)</p> <p>Glu 150 mg/l + TDZ 0,5 mg/l</p>	<p>FD: Yellow (Avocado)</p>	<p>#8B9567</p>
 <p>Dark Green Hex: #5D6C44</p> <p>Chalet Green HSV: (83°, 37%, 42%)</p> <p>Glu 150 mg/l + TDZ 0,75 mg/l</p>	<p>DG (Chalet Olive Green)</p>	<p>#5D6C44</p>
 <p>Dark Green Hex: #374A14</p> <p>Turtle Green HSV: (81°, 73%, 29%)</p> <p>Glu 150 mg/l + TDZ 1 mg/l</p>	<p>DG (Turtle Green)</p>	<p>#374A14</p>
 <p>Dark Green Hex: #384A2A</p> <p>Palm Leaf HSV: (94°, 43%, 29%)</p> <p>Glu 150 mg/l + TDZ 1,25 mg/l</p>	<p>DG (Palm Leaf)</p>	<p>#384A2A</p>

 <p>Dark Green Hex: #445925</p> <p>Army green HSV: (84°, 58%, 35%)</p>  <p>Glu 200 mg/l + TDZ 0 mg/l</p>	DG (Army Green)	#445925
 <p>Dark Green Hex: #546836</p> <p>Dark Olive Green HSV: (84°, 48%, 41%)</p>  <p>Glu 200 mg/l + TDZ 0,25 mg/l</p>	DG (Dark Olive Green)	#546836
 <p>Dark Green Hex: #4E6326</p> <p>Green Leaf HSV: (81°, 62%, 39%)</p>  <p>Glu 200 mg/l + TDZ 0,5 mg/l</p>	DG (Green Leaf)	#4E6326
 <p>Dark Green Hex: #5A6A40</p> <p>Chalet Green HSV: (83°, 40%, 42%)</p>  <p>Glu 200 mg/l + TDZ 0,75 mg/l</p>	DG (Chalet Green)	#5A6A38
 <p>Grey → Green Hex: #707B5C</p> <p>Finch HSV: (81°, 25%, 48%)</p>  <p>Glu 200 mg/l + TDZ 1 mg/l</p>	GG (Finch)	#707B5C



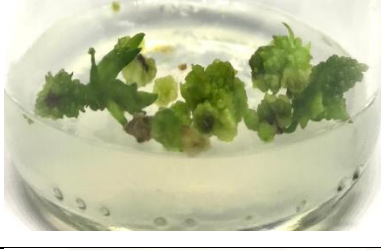



 <p>Glu 200 mg/l + TDZ 1,25 mg/l</p>	DG (Clover)	#4154424
 <p>Glu 250 mg/l + TDZ 0 mg/l</p>	DG (Verdun Green)	#425C13
 <p>Glu 250 mg/l + TDZ 0,25 mg/l</p>	DG (Verdun Green)	#3B540D
 <p>Glu 250 mg/l + TDZ 0,5 mg/l</p>	DG (Clover)	#455633


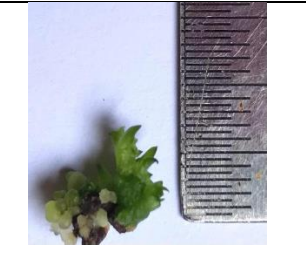

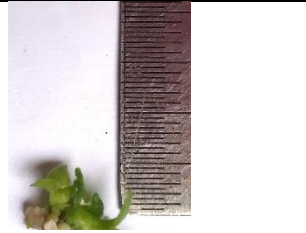



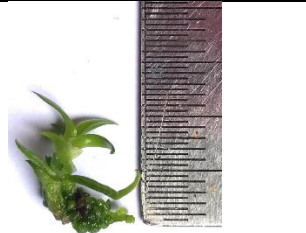


 <p>Dark Green Verdun Green Hex: #395311 HSV: (84°, 80%, 33%)</p> <p>Glu 250 mg/l + TDZ 0,75 mg/l</p>	DG (Verdun Green)	#395311
 <p>Black -> Green Myrtle Hex: #213808 HSV: (89°, 86%, 22%)</p> <p>Glu 250 mg/l + TDZ 1 mg/l</p>	BG (Myrtle)	#213808
 <p>Black -> Green Turtle Green Hex: #324B08 HSV: (82°, 89%, 29%)</p> <p>Glu 250 mg/l + TDZ 1,25 mg/l</p>	BG (Turtle Green)	#324B08







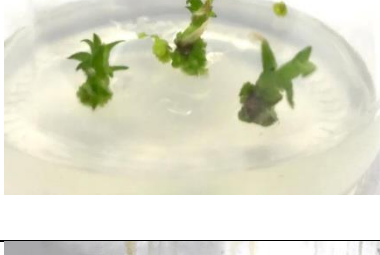



Lampiran 6 Gambar Pengamatan Parameter Tinggi Tunas

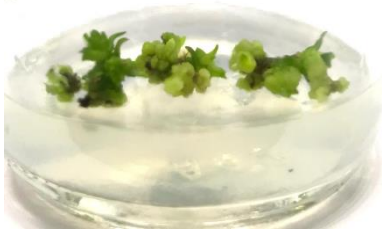




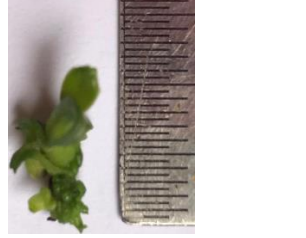
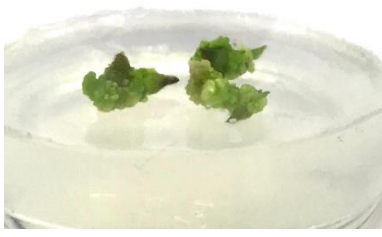

















Lampiran 7. Foto Pengamatan







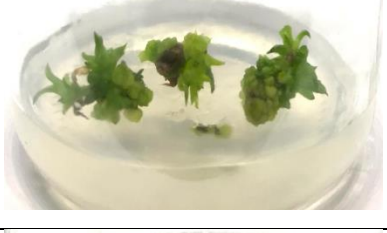



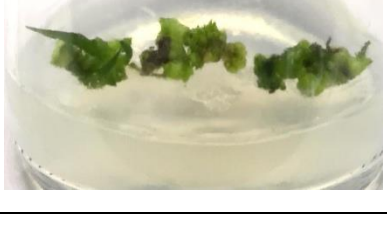
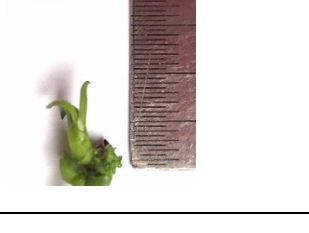
Perlakuan	Foto Pengamatan	
Glu 0 mg/l + TDZ 0 mg/l		
Glu 0 mg/l + TDZ 0,25 mg/l		
Glu 0 mg/l + TDZ 0,5 mg/l		








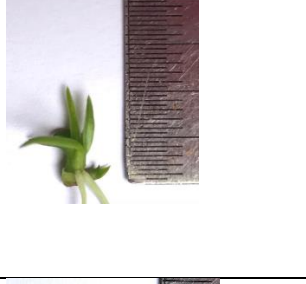




Glu 0 mg/l + TDZ 0,75 mg/l		
Glu 0 mg/l + TDZ 1 mg/l		
Glu 0 mg/l + TDZ 1,25 mg/l		
Glu 50 mg/l + TDZ 0 mg/l		
Glu 50 mg/l + TDZ 0,25 mg/l		

<p>Glu 50 mg/l + TDZ 0,5 mg/l</p>		
<p>Glu 50 mg/l + TDZ 0,75 mg/l</p>		
<p>Glu 50 mg/l + TDZ 1 mg/l</p>		
<p>Glu 50 mg/l + TDZ 1,25 mg/l</p>		
<p>Glu 100 mg/l + TDZ 0 mg/l</p>		

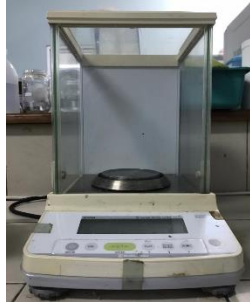
<p>Glu 100 mg/l + TDZ 0,25 mg/l</p>		
<p>Glu 100 mg/l + TDZ 0,5 mg/l</p>		
<p>Glu 100 mg/l + TDZ 0,75 mg/l</p>		
<p>Glu 100 mg/l + TDZ 1 mg/l</p>		
<p>Glu 100 mg/l + TDZ 1,25 mg/l</p>		

Glu 150 mg/l + TDZ 0 mg/l		
Glu 150 mg/l + TDZ 0,25 mg/l		
Glu 150 mg/l + TDZ 0,5 mg/l		
Glu 150 mg/l + TDZ 0,75 mg/l		
Glu 150 mg/l + TDZ 1 mg/l		
Glu 150 mg/l + TDZ 1,25 mg/l		

Glu 200 mg/l + TDZ 0 mg/l		
Glu 200 mg/l + TDZ 0,25 mg/l		
Glu 200 mg/l + TDZ 0,5 mg/l		
Glu 200 mg/l + TDZ 0,75 mg/l		
Glu 200 mg/l + TDZ 1 mg/l		
Glu 200 mg/l + TDZ 1,25 mg/l		

Glu 250 mg/l + TDZ 0 mg/l		
Glu 250 mg/l + TDZ 0,25 mg/l		
Glu 250 mg/l + TDZ 0,5 mg/l		
Glu 250 mg/l + TDZ 0,75 mg/l		
Glu 250 mg/l + TDZ 1 mg/l		
Glu 250 mg/l + TDZ 1,25 mg/l		

Lampiran 8. Alat-alat Penelitian



Timbangan Analitik

*Hot plate dan stirrer*

Autoklaf



Ph meter



LAF

Lampiran 8. Kegiatan Penelitian





KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Ifिता Nur Aini Harmita
NIM : 17620041
Program Studi : S1 Biologi
Semester : X
Pembimbing : Kholifah Holil, M.Si.
Judul Skripsi : Multiplikasi Tunas *Protocorm Like Body* (PLB) Anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) Menggunakan Thidiazuron (TDZ) dan asam amino glutamin secara *in vitro*

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	10-02-2021	Pembekalan dan konsultasi riset penelitian (judul dan objek penelitian)	<i>[Signature]</i>
2.	19-02-2021	Presentasi judul dan konsep penelitian	<i>[Signature]</i>
3.	26-02-2021	Konsultasi BAB I	<i>[Signature]</i>
4.	06-07-2021	Revisi BAB I penulisan kata dan alur belum jelas	<i>[Signature]</i>
5.	22-08-2021	Revisi BAB I permasalahan yang muncul pada penelitian dan pengiriman BAB III	<i>[Signature]</i>
6.	29-09-2021	Revisi BAB III dan pengiriman BAB II	<i>[Signature]</i>
7.	07-09-2021	ACC proposal	<i>[Signature]</i>
8.	07-12-2021	Konsultasi Langkah Kerja Penelitian	<i>[Signature]</i>
9.	18-04-2022	Konsultasi BAB IV	<i>[Signature]</i>
10.	22-04-2022	Konsultasi BAB IV	<i>[Signature]</i>
11.	23-05-2022	Konsultasi BAB IV	<i>[Signature]</i>
12.	30-05-2022	Konsultasi BAB IV	<i>[Signature]</i>
13.	07-06-2022	ACC naskah	<i>[Signature]</i>

Pembimbing Skripsi,

[Signature]

Kholifah Holil, M.Si.
NIP. 197511062009122002



Malang, 06 Juni 2022
Ketua Program Studi,

[Signature]
Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.
NIP. 197410182003122002



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Ifita Nur Aini Harmita
NIM : 17620041
Program Studi : S1 Biologi
Semester : X
Pembimbing : Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I.
Judul Skripsi : Multiplikasi Tunas *Protocorm Like Body* (PLB) Anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) Menggunakan Thidiazuron (TDZ) dan asam amino glutamin secara *in vitro*

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	04-11-2021	Konsultasi integrasi BAB I dan II	
2.	09-11-2021	ACC proposal	
3.	27-05-2022	Konsultasi integrasi BAB IV	
4.	30-05-2022	ACC skripsi	
5.			
6.			
7.			
8.			
9.			
10.			
11.			
12.			

Pembimbing Skripsi,

Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I.
NIPT. 20142011409

Malang, 30 Mei 2022
Ketua Program Studi,



Dr. Erika Sandi Savitri, M.P.
NIP. 197410182003122002




KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
 Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

Form Checklist Plagiasi

Nama : Iftita Nur Aini Harmita
NIM : 17620041
Judul : Multiplikasi Tunas *Protocorm Like Body* (PLB) Anggrek *Dendrobium stratiotes* (Rchb.f) Menggunakan Thidiazuron (TDZ) dan Asam Amino Glutamin Secara *In Vitro*

No	Tim Checkplagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc	25 %	
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si		

Mengetahui,
 Ketua Program Studi Biologi


Dinevika Sandi Savitri, M.P
 NIP. 19741018 200312 2 002